

**Kollagen-Abbaumarker bei Osteoarthropathia psoriatica -  
Abhängigkeit von der Arthritisaktivität, dem Geschlecht und  
dem Alter**

Dissertation

**zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)**

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Friedemann Schmidt  
geboren am 23. Januar 1968 in Berlin

## Gutachter

1. Prof. Dr. G. Hein, Klinik für Innere Medizin IV der FSU Jena, Leiter des Funktionsbereiches Rheumatologie und Osteologie
2. Prof. Dr. R. Breuer, Institut für Pathologie der FSU Jena, Leiter der Abteilung Immunpathologie
3. Prof. Dr. J. Kekow, Universität Magdeburg, Chefarzt der Klinik für Rheumatologie Vogelsang-Gommern

Tag der öffentlichen Verteidigung: 02. 12. 2002

# Inhaltsverzeichnis

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG</b>	<b>5</b>
<b>1.1.</b>	<b>OSTEOARTHROPATHIA PSORIATICA</b>	<b>6</b>
<b>1.2.</b>	<b>BIOCHEMISCHE MARKER DER KNOCHEN- UND KNORPELDEGRADATION</b>	<b>8</b>
<b>1.3.</b>	<b>DIE KOLLAGEN-CROSSLINKS PYRIDINOLIN UND DESOXYPYRIDINOLIN</b>	<b>8</b>
1.3.1.	SYNTHESE UND STRUKTUR	8
1.3.2.	VORKOMMEN UND VERTEILUNG	10
1.3.3.	FREISETZUNG UND ELIMINATION	11
1.3.4.	EINFLUßFAKTOREN AUF DIE CROSSLINK-AUSSCHIEDUNG	12
1.3.5.	MESSUNGEN IM SERUM UND IM URIN	13
<b>1.4.</b>	<b>ABLEITUNG DER FRAGESTELLUNG</b>	<b>14</b>
<b>II.</b>	<b>PATIENTENGUT, MATERIAL UND METHODE</b>	<b>16</b>
<b>2.1.</b>	<b>PATIENTENGUT</b>	<b>16</b>
2.1.1.	ARTHRITIS PSORIATICA	16
2.1.2.	VERGLEICHSGRUPPEN	17
<b>2.2.</b>	<b>BESTIMMUNG DER KOLLAGEN-CROSSLINKS MITTELS HPLC</b>	<b>18</b>
2.2.1.	CHEMIKALIEN	18
2.2.2.	PROBENVORBEREITUNG BEI URIN	19
2.2.3.	HPLC	19
2.2.4.	CROSSLINKSKONZENTRATION IM SERUM	20
<b>2.3.</b>	<b>BESTIMMUNG VON HYDROXYPROLIN IM URIN</b>	<b>21</b>
2.3.1.	CHEMIKALIEN:	21
2.3.2.	PROBENVORBEREITUNG UND BESTIMMUNG MITTELS HPLC	21
<b>2.4.</b>	<b>N-TELOPEPTID</b>	<b>22</b>
<b>2.5.</b>	<b>KLINISCHE UND PARAKLINISCHE VERGLEICHSPARAMETER</b>	<b>22</b>
2.5.1.	AKTIVITÄTSGRAD DER ARTHRITIS	22
2.5.2.	BSG UND CRP	22
2.5.3.	PASI	23
<b>2.6.</b>	<b>AUSWERTUNG UND STATISTIK</b>	<b>23</b>
<b>III.</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>24</b>
<b>3.1.</b>	<b>CROSSLINKS (CL) BEI DER AP</b>	<b>24</b>
3.1.1.	MESSUNG IM SERUM UND IM URIN	24
3.1.2.	CL IN ABHÄNGIGKEIT VON DER ARTHRITISAKTIVITÄT	26
3.1.3.	CL-AUSSCHIEDUNG IN ABHÄNGIGKEIT VON GESCHLECHT	27
3.1.4.	CL UND ALTER	29
3.1.5.	CL UND BSG BZW. CRP	31
3.1.6.	CL UND PASI	32
3.1.7.	CL UND ANDERE KOLLAGENDEGRADATIONSMARKER	33
<b>3.2.</b>	<b>CROSSLINKS BEI DER PSORIASIS OHNE ARTHRITIS</b>	<b>37</b>
<b>3.3.</b>	<b>CROSSLINKS BEI AP, RA UND OSTEOPOROSE</b>	<b>38</b>

<b>IV. DISKUSSION</b>	<b>45</b>
<b>4.1. CL ALS BIOCHEMISCHER MARKER BEI DER OSTEOARTHROPATHIA PSORIATICA</b>	<b>45</b>
4.1.1. OSTEOPATHIE	45
4.1.2. CL UND HAUTMANIFESTATION	49
4.1.3. CL UND ARTHRITISAKTIVITÄT	50
4.1.4. CL BEI DER AP UND DER RA IM VERGLEICH	54
<b>4.2. KRANKHEITSUNABHÄNGIGE EINFLÜSSE AUF DIE CL-AUSSCHIEDUNG</b>	<b>58</b>
4.2.1. ABHÄNGIGKEIT DER CL-AUSSCHIEDUNG VOM GESCHLECHT	58
4.2.2. ABHÄNGIGKEIT DER CL-AUSSCHIEDUNG VOM ALTER	63
<b>4.3. VERGLEICH MIT ANDEREN KOLLAGENDEGRADATIONSMARKERN</b>	<b>64</b>
4.3.1. EINFÜHRUNG	64
4.3.2. NTX	66
4.3.3. HYDROXYPROLIN	67
4.3.4. CL IM SERUM	69
<b>V. ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>72</b>
<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>75</b>

## **Glossar**

Ap	Arthritis psoriatica
aAp	aktive Arthritis psoriatica
iAp	inaktive bzw. gering aktive Arthritis psoriatica
CL	Kollagen-Crosslinks bzw. Pyridinium-Crosslinks
Dpyd	Desoxypyridinolin
fDpyd	freies Desoxypyridinolin
pDpyd	peptidgebundenes Desoxypyridinolin
HPLC	high-performance liquid chromatography
Hyp	Hydroxyprolin
NTx	N-terminales Telopeptid des Kollagen-I
OAP	Osteoarthropathia psoriatica
OP	Osteoporose
PASI	Psoriasis Area and Severity Index
Pyd	Pyridinolin
fPyd	freies Pyridinolin
pPyd	peptidgebundenes Pyridinolin
RA	Rheumatoide Arthritis
sDpyd	Dpyd im Serum
sPyd	Pyd im Serum
uDpyd	Dpyd im Urin
uPyd	Pyd im Urin

## I. Einleitung und Fragestellung

Die Psoriasis-Krankheit ist nicht ausschließlich auf die Hautmanifestation beschränkt. Es gibt eine Reihe von Argumenten, sie als Systemerkrankung anzusehen [53][46]. Hauptmanifestationsorgane sind die Haut, die Gelenke und der Knochen.

Bereits 1818 wurde von ALIBERT ein Zusammenhang zwischen der Psoriasis und der beim gleichen Patienten auftretenden Gelenkentzündung vermutet. BAZIN führte 1860 den Begriff der „Psoriasis arthritica“ ein. Allerdings wurde erst Mitte des 20. Jahrhunderts die „Arthritis psoriatica“ als eine Krankheit anerkannt, die sich von der Rheumatoiden Arthritis unterscheidet [47].

In der Folgezeit wurden je nach dem im Vordergrund stehenden klinischen Symptom verschiedene Bezeichnungen für das Krankheitsbild zum Teil synonym verwandt. So wird in der Dermatologie von der „Psoriasis arthropatica“ gesprochen, während in der Rheumatologie die Begriffe „Psoriasisarthritis“ und „Arthritis psoriatica“ gebräuchlich sind.

Ende der 70er Jahre wurde der Begriff der „Osteoarthropathia psoriatica“ geprägt, nachdem szintigrafische und pathomorphologische und später histomorphometrische Befunde für eine der Psoriasis-Krankheit immanente Osteopathie sprachen. Der Terminus „Osteoarthropathia psoriatica“ (OAP) wird auch in dieser Arbeit als Begriff für das Gesamtkrankheitsbild verwendet, während „Arthritis psoriatica“ (Ap) speziell die Gelenkentzündung bezeichnet.

Bei der OAP kommt es im Rahmen der Gelenk- und Knochenmanifestation zu Knorpelzerstörung und einem gesteigerten Umbau der Knochensubstanz, teilweise mit einem Überwiegen des Knochenabbaus. In der klinischen Praxis besteht die Notwendigkeit, das Ausmaß dieser Vorgänge und damit die Intensität der Um- und Abbauprozesse abzuschätzen. Da es beim Abbau von Knorpel- und Knochensubstanz zur Kollagendegradation kommt, bieten sich hierzu als spezifische Kollagendegradationsmarker die Pyridinium-Crosslinks (CL) an. Diese Moleküle, hauptsächlich Pyridinolin sowie Desoxypyridinolin, vernetzen die Kollagenfibrillen untereinander und weisen ein gewebespezifisches Verteilungsmuster auf.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Spiegel der Kollagen-Crosslinks bei der OAP als Ausdruck der dabei ablaufenden Kollagenabbauprozesse zu analysieren. Es wird untersucht, ob mit Hilfe der Kollagen-Crosslinks Aufschlüsse über das Verhältnis von Knochen- und

Knorpelschädigung zueinander gewonnen werden können und ob auf diese Weise die psoriatische Osteopathie auch mit biochemischen Parametern abgebildet werden kann.

### **1.1. Osteoarthropathia psoriatica**

Die Arthritis psoriatica ist definitionsgemäß eine (meist) seronegative Oligo- oder Polyarthritis, die im Zusammenhang mit einer Psoriasis der Haut und/oder der Nägel auftritt. Der Verlauf ist schubförmig exsudativ und/oder chronisch destruierend. Die Ap zeigt eine große Bandbreite zum Teil typischer Verteilungsmuster entzündeter Gelenke. Neben dem Befall der distalen kleinen Gelenke kommt es häufig auch zu einer Beteiligung der Kniegelenke und des Stammskeletts, insbesondere der Ileosakralgelenke [46].

Der häufige Befall des Stammskeletts, das bis zu 60% nachweisbare HLA-B27 und der fehlende Rheumafaktor haben dazu veranlaßt, die Ap mit anderen entzündlichen Erkrankungen der Gelenke und der Wirbelsäule (u.a. Spondylitis ankylosans, Reitersyndrom, enterogene Arthritiden) in der Gruppe der seronegativen Spondarthritiden zusammenzufassen. Allerdings tritt das HLA-B27 lediglich in der OAP-Gruppe mit Stammskelettbeteiligung überdurchschnittlich häufig auf.

Von der Rheumatoiden Arthritis (RA) unterscheidet sich die Ap neben der Seronegativität in mehreren klinischen Merkmalen. Insbesondere zeichnet sich die Ap durch andere spezifische Verteilungsmuster entzündeter Gelenke aus, so den Befall der Fingerendgelenke (Transversaltyp), den Strahlbefall einer ganzen Phalanx und die asymmetrische Verteilung. Die Gelenkschwellungen bei der Ap wirken oft derber und sind meist weniger schmerzhaft als bei der RA. Auffällig ist weiterhin, daß es bei der Ap trotz eines im Vergleich zur RA meist milderen Verlaufes bei einem kleinen Anteil neben osteolytischen Mutilationen zu Ankylosen kommen kann, wie sie bei der RA eher nicht gefunden werden.

**Röntgenologisch** zeigen sich ebenfalls Unterschiede zur RA. So können neben den typischen Verteilungsmustern der betroffenen Gelenke bei der Ap oft am gleichen Gelenk nebeneinander Erosionen und Knochenappositionen festgestellt werden [75].

So wie bei der Psoriasis sind bislang auch bei der Ap keine spezifischen pathognomonischen **biochemischen** Marker gefunden worden. Bei einer floriden Arthritis können unspezifische Entzündungszeichen (Erhöhungen der BSG, CrP, diskrete Leukozytose, leichte hypochrome Anämie und erniedrigtes Eisen) beobachtet werden, jedoch meist schwächer ausgeprägt als

bei der RA. Auffällig ist, daß pathologische Immunphänomene (antinukleäre Antikörper sowie Rheumafaktoren) fast nur bei der RA-ähnlichen Ap auftreten, dagegen in der Regel nicht beim klassischen Endgelenkbefall [81].

Verschiedene Befunde weisen auf eine eigenständige, von der Arthritis unabhängige Manifestation der Psoriasis am Knochen hin.

So fand der Dermatologe HOLZMANN **szintigrafisch** mit 99m-Technetium-Phosphaten bei einer großen Gruppe von Psoriatikern, daß sich die Skelettbeteiligung bei der Psoriasis nicht nur auf die von der Arthritis befallenen Gelenke beschränkt [53]. Sowohl gelenknahe Knochenbereiche (auch nichtentzündeter Gelenke), als auch gelenkferne Knochenbereiche fielen durch eine zum Teil diffuse Radionuklidmehrspeicherung auf. Auffällig war ein Zusammenhang zwischen der klinisch manifestierten Arthritis und den nach szintigrafischen Kriterien graduell am stärksten speichernden Arealen („hot spots“) [54]. Nach diesen Untersuchungen würde sich der Prozentsatz der Psoriatiker mit (allerdings zumeist klinisch stummer) Skelettbeteiligung auf 80-90% belaufen.

FASSBENDER beschrieb **pathologisch-histologisch** zwei voneinander getrennte Prozesse an den entzündeten Gelenken bei der Ap [28]. Zum einen die Synovialitis, die sich morphologisch kaum von der RA unterscheiden läßt, und zum anderen einen extrakapsulären ossären Prozeß, in dessen Verlauf die Kollagenfasermatrix des Knochens durch den Verlust der Proteoglykanzwischen substanz ohne vorangehende Entzündung und ohne eine erkennbar vermehrte Osteoklastenaktivität freigelegt wird. Die Ursache für diesen Prozeß ist nicht bekannt.

Ein weiterer Befund war die von HEIN bei der Psoriasis vulgaris mittels **Histomorphometrie** von Beckenkammbiopsaten unabhängig vom Vorliegen einer Ap festgestellte generalisierte Osteopathie mit high turnover remodelling, was den szintigrafischen Befunden einer diffusen Mehrspeicherung v.a. im Stammskelett entsprechen könnte [43].



## **1.2. Biochemische Marker der Knochen- und Knorpeldegradation**

In der biochemischen Diagnostik des Knochen- und Knorpelmetabolismus können prinzipiell Marker der Zellaktivität der beteiligten Zelltypen sowie Matrixmoleküle, insbesondere Kollagenproteine bzw. deren Vorstufen oder Abbauprodukte gemessen werden. Marker der **Knochenformation** sind z.B. die knochenspezifische alkalische Phosphatase als Enzym der Osteoblasten, Osteocalcin, ein von Osteoblasten synthetisiertes Knochenmatrixprotein, sowie das C-terminale-Typ-I-Kollagenpropeptid (CICP), ein Spaltprodukt bei der Kollagensynthese.

Marker der **Knochenresorption** sind z.B. die tartratesistente saure Phosphatase als Enzym der Osteoklasten sowie Produkte der Kollagen degradation. Hier stand bis vor wenigen Jahren fast ausschließlich Hydroxyprolin (Hyp) zur Verfügung. Dessen Spezifität als Knochenabbaumarker ist allerdings durch das Vorkommen in den Kollagentypen anderer Bindegewebe, das ebenso erhöhte Aufkommen bei gesteigerter Kollagensynthese und die Beeinflussung durch die Nahrung eingeschränkt.

In den letzten Jahren wurden Substanzen isoliert, die eine höhere Spezifität für Kollagenabbauprozesse besitzen. Hierbei handelt es sich einerseits um längere Kollagenkettenbruchstücke, d.h. Peptide, die bei der Kollagen degradation entstehen wie das N-terminale Telopeptid (NTx) des Kollagen-I, andererseits um die Kollagen-Crosslinks, die als Quervernetzungsmoleküle zwischen den Kollagenmolekülen dienen und im Degradationsprozeß freigesetzt werden [24][111][16].

## **1.3. Die Kollagen-Crosslinks Pyridinolin und Desoxypyridinolin**

### **1.3.1. Synthese und Struktur**

Das intrazellulär gebildete Prokollagen stellt eine Tripelhelix aus drei Polypeptid- $\alpha$ -Ketten dar, von dem nach der Exozytose in den Extrazellularraum die beiden Enden enzymatisch abgeschnitten werden. Das so entstandene Tropokollagen ist nicht mehr wasserlöslich und kann jetzt mit anderen Tropokollagenmolekülen einander überlappend zu Kollagenfibrillen aggregieren. Im Bereich der nicht spiralisierten Enden der Tropokollagenmoleküle, den Telopeptiden, kommt es zu stabilen Quervernetzungen mit den Nachbarmolekülen durch Pyridinium-Crosslinks (Abbildung 1).

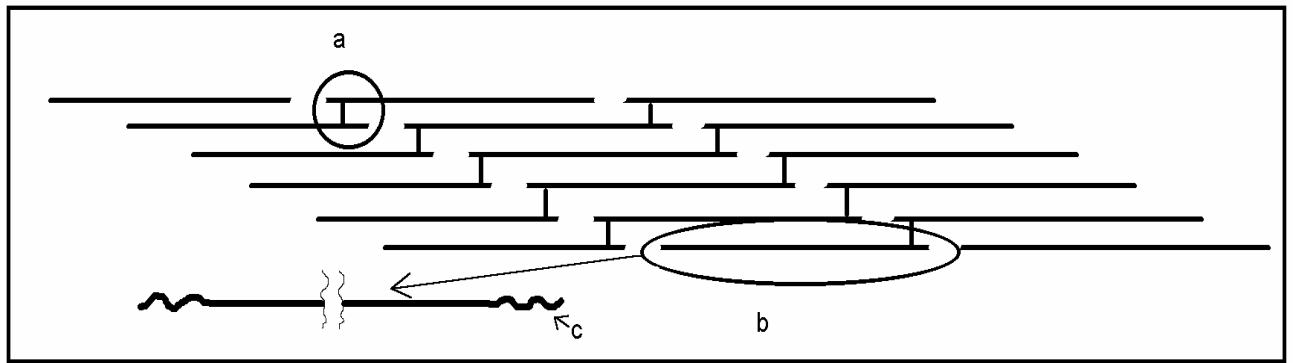


Abbildung 1 schematische und vereinfachte Darstellung einer Kollagenfibrille als Verband von Tropokollagenmolekülen (b), die im Telozeptidbereich (c) durch Crosslinks (a) verbunden sind (in Anlehnung an [110])

Bei dieser Quervernetzung wird im ersten Schritt ein Hydroxylysinrest (H) bzw. ein Lysinrest (L) im Telozeptidbereich eines Kollagenmoleküls von dem Enzym Lysyloxidase Cu-abhängig zu einem Aldehyd oxydiert. Danach katalysiert das gleiche Enzym die Verbindung mit einem zweiten Hydroxylysinrest, so daß ein bifunktionales Crosslinkmolekül entsteht. Dieses wird im letzten Schritt mit einem dritten Hydroxylysin zu einem trifunktionalen Pyridinium-Crosslink verbunden, bei der Kombination H-H-H zu Pyridinolin (Pyd) und bei L-H-H zu Desoxypyridinolin (Dpyd) [5][111][110].

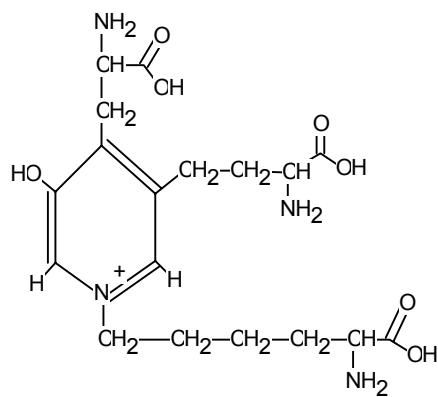
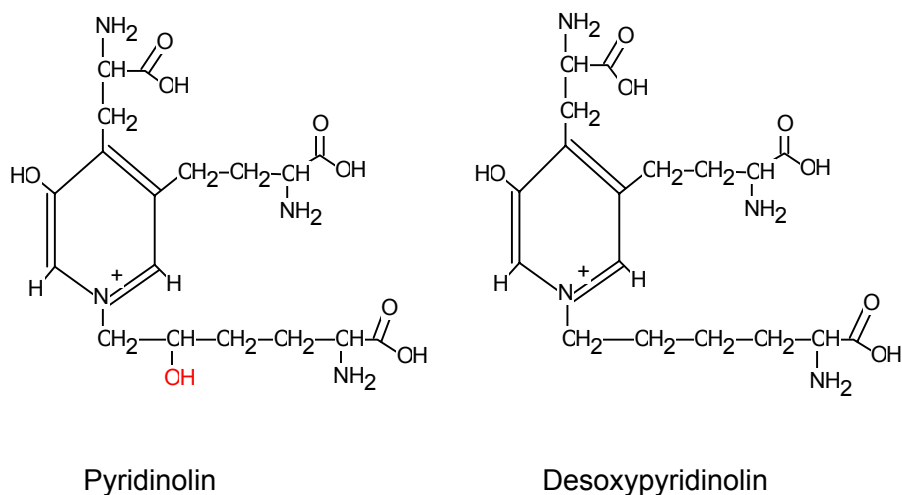


Abbildung 2 chemische Struktur der Pyridinium-Crosslinks

### 1.3.2. Vorkommen und Verteilung

Ob Pyd oder Dpyd entstehen, hängt somit vom Grad der Hydroxylierung der Lysinreste im Telozeptidbereich ab, der gewebespezifisch deutlich variiert. Für diese Unterschiede sind die jeweiligen Kollagen-produzierenden Zelltypen verantwortlich. So findet sich im Typ-II-Kollagen, dem Hauptkollagen des Knorpels fast ausschließlich Pyd, während im Knochenkollagen (Typ-I-Kollagen) beide Pyridinium-Crosslinks in einem Verhältnis (Pyd/Dpyd) von ungefähr 3:1 bis 4:1 vorkommen [111][119]. Da bei der Synthese eines Pyd-Moleküls alle 3 Lysinreste und bei der Dpyd-Synthese 2 von 3 Lysinresten hydroxyliert sein müssen, kann man davon ausgehen, daß im Knochenkollagen nur ca. 1 von 14 Lysinresten nicht hydroxyliert ist. Im Gegensatz dazu enthält das von Fibroblasten stammende Typ-I-Kollagen der Haut keine hydroxylierten Lysinreste, so daß es dort bei der Quervernetzung zu Histidin-Crosslinks kommt und demzufolge keine Pyridinium-Crosslinks nachgewiesen werden können.

Die Gesamtkonzentration an Pyridinium-Crosslinks ist wie in Tabelle 1 zu ersehen im Knorpelkollagen am größten. Sie beträgt nach verschiedenen Autoren das Drei- bis Fünffache der CL-Konzentration im Knochenkollagen. Da Dpyd fast nur im Knochenkollagen auftritt, gilt Dpyd unter normalen Bedingungen als relativ spezifischer Knochenresorptionsmarker. Die Mengen an Dpyd, die von anderen Geweben beigesteuert werden, sind wegen des langsameren Stoffwechsels bzw. der geringeren Masse von untergeordneter Bedeutung [111].

Tabelle 1 Daten zu Vorkommen und Verteilung der Pyridinium-Crosslinks in unterschiedlichen Geweben bei SEIBEL 1992 und TAKAHASHI 1996

Gewebe	Literatur-Quelle	Pyd <sup>1)</sup>	Dpyd <sup>1)</sup>	Gesamt-CL <sup>2)</sup>	Pyd /Dpyd
Gelenkknorpel	SEIBEL 1992 [111]	1,47	-	1,47	nur Pyd
Bandscheibenknorpel		1,14	-	1,14	nur Pyd
kortikaler Knochen		0,35	0,08	0,42	4,4
trabekulärer Knochen		0,26	0,06	0,32	4,3
Aorta		0,30	0,07	0,37	4,3
Bänder		0,47	0,05	0,42	9,4
Gelenkknorpel	TAKAHASHI 1996 [119] <sup>3)</sup>	0,99 / 1,05	0,027 / 0,019	1,02 / 1,07	41,2 / 67,7
subchondraler Knochen		0,14 / 0,16	0,047 / 0,047	0,19 / 0,21	3,0 / 3,5
Synovialis		0,47 / 0,49	0,026 / 0,019	0,50 / 0,51	25,6 / 30,4

<sup>1)</sup> mol/mol Kollagenmoleküle; <sup>2)</sup> Summe aus Pyd und Dpyd entspricht der Gesamtkonzentration an CL;

<sup>3)</sup> bei TAKAHASHI Daten für Osteoarthritis / RA

### 1.3.3. Freisetzung und Elimination

Da die Synthese der Crosslinks erst nach der Bildung von Kollagenfibrillen aus Tropokollagenmolekülen einsetzt, können die Crosslinks nur in reifem, im Gewebeverband integrierten Kollagen vorkommen. Damit sind freiwerdende Crosslinks immer Abbauprodukte reifen Kollagens und zeigen Degradations- bzw. Resorptionsprozesse kollagenhaltiger Gewebe im Körper an.

Kollagenabbauvorgänge treten im Rahmen des normalen „remodelling“ im Binde- und Stützgewebe auf. Dabei steht der Knochenumsatz infolge des wesentlich langsameren Stoffwechsels der anderen Bindegewebe (z.B. Knorpel, Bänder) bzw. auch der im Verhältnis zum Knochen deutlich geringeren Masse (z.B. Aorta, Dentin) im Vordergrund. Die Crosslink-Ausscheidung basiert daher beim Gesunden zum überwiegenden Teil auf der Kollagen Degradation im Knochen. Dies äußert sich auch in dem Verhältnis Pyd/Dpyd, das beim Gesunden in etwa dem des Typ-I-Kollagen des Knochen entspricht [94].

Der ständige Knochenumbau stellt eine unerläßliche Anpassungsleistung an veränderte statische und dynamische Belastungen dar. Verstärkt kann dies in der Wachstumsperiode beobachtet werden, was sich auch in einer höheren und mit dem Wachstumstempo korrelierenden Crosslink-Ausscheidung zeigt [96].

Daneben kommt es auch im Zusammenhang mit Störungen der Kalzium-Homöostase zum Kollagenabbau im Knochen, da der Knochen das größte Kalziumreservoir des Körpers darstellt und eine Hypokalzämie eine PTH-vermittelte Osteoklastenaktivierung zur Folge hat [101][114][92].

Ein gesteigerter Kollagenabbau zeigt sich aber im Rahmen von Reparationsprozessen bei der Frakturheilung und bei Krankheiten, die mit massivem Knochenumbau (z.B. Morbus Paget), Knochensubstanzverlust (z.B. Osteoporose) oder Knorpelschädigung (z.B. Arthritiden und Arthrosen) verbunden sind.

Die Kollagenmoleküle werden von proteolytischen Enzymen gespalten, wodurch Crosslink-vernetzte Peptide freigesetzt werden. Diese werden im weiteren Verlauf zum Teil noch weiter abgebaut, so daß ein gewisser Anteil der Crosslinks schon in vivo in freier Form vorliegt [4]. Außer dieser teilweisen Freisetzung aus den Peptidbindungen ist keine weitere Metabolisierung oder Wiederverwertung der Crosslinks im Körper bekannt.

Die CL werden in gebundener und in freier Form vollständig renal ausgeschieden. Dies geschieht anscheinend bis zu einem gewissen Grade unabhängig von der renalen Funktion

[78]. Andererseits kommt es bei chronischer Niereninsuffizienz zur Retention der CL mit deutlich erhöhten Serumspiegeln [84]. Dabei könnte die im Urin ausgeschiedene Menge an CL nach Erreichen eines neuen steady state möglicherweise das reale Aufkommen der CL bei der Kollagendegradation widerspiegeln<sup>1</sup>.

#### 1.3.4. Einflußfaktoren auf die Crosslink-Ausscheidung

Die CL-Ausscheidung unterliegt deutlichen **tageszeitlichen Schwankungen**. Alle diesbezüglichen Studien weisen nach, daß die höchsten CL-Werte in der Nacht und den frühen Morgenstunden erreicht werden. Im Laufe des Vormittages kommt es zu einem Abfall um bis zu 25-35% und gegen 17 Uhr werden die niedrigsten Werte erreicht [103][78]. Betrachtet man die Ausscheidung der peptidgebundenen und freien Crosslinks gesondert, zeigt sich, daß die tageszeitlichen Schwankungen bei den (noch) peptidgebundenen Crosslinks deutlicher ausfallen als bei den freien Crosslinks [3]. Eine Erklärung hierfür könnte sein, daß von den Osteoklasten nur Crosslink-vernetzte Peptide freigesetzt werden [4], die erst im weiteren Verlauf aufgespalten werden. Schwankungen der Osteoklastenaktivität werden deshalb möglicherweise von den peptidgebundenen Crosslinks genauer widerspiegelt.

Der Knochenmetabolismus wird durch vielfältige **hormonelle Einflußgrößen** in einem komplizierten Regulationssystem gesteuert. Es ist bekannt, daß Cortisol, Parathormon und Kalzitinin sowie Vitamin D und Kalzium eine wichtige Rolle in der Regulation spielen, wobei die genauen Mechanismen zum Teil noch unklar sind und diesbezügliche Studien zum Teil zu sich widersprechenden Ergebnissen kommen [101][106][114]. Unstrittig ist der große Einfluß von Östrogenen, insbesondere dem Östradiol, das eine Knochenabbau-hemmende Wirkung entfaltet [112][13][65]. Dieser zeigt sich auch in einem postmenopausalen Anstieg des Knochenumsatzes infolge des abgesunkenen Östradiolspiegels. Auch konnte ein Einfluß des Menstruationszyklus auf die Ausscheidung von Knochenabbaumarkern nachgewiesen werden [41].

Wie COLWELL zeigen konnte, werden die Pyridinium-Crosslinks nicht über den Darm resorbiert [17]. Die **Diät** spielt demnach für die CL-Messung keine Rolle, sieht man von der o.g. Beeinflussung durch eine sehr hohe Kalziumzufuhr ab.

---

<sup>1</sup> Allerdings könnte eine Retention der CL sich glättende Tagesausscheidungskurven zur Folge haben. Dies würde im Verhältnis zur Tagesgesamtausscheidung falsch niedrige CL-Werte im morgendlichen Spontanurin bedingen.

### 1.3.5. Messungen im Serum und im Urin

In zahlreichen Studien haben die CL-Spiegel eine gute Korrelation zu Krankheitsprozessen mit vermehrtem Kollagenabbau gezeigt. In diesen Arbeiten wurde zumeist die CL-Ausscheidung im Urin erfaßt, da die CL im Urin in wesentlich höheren Konzentrationen vorliegen als im Serum. Die Serumkonzentrationen erwiesen sich zumeist als zu niedrig, um mittels der HPLC bestimmt werden zu können. Von Interesse waren die Serumkonzentrationen der CL jedoch für die Untersuchung der Eliminationskinetik der CL, bei verminderter renaler Elimination der CL bei Niereninsuffizienz sowie allgemein als möglicherweise zeitnähere Abbildung der Kollagendegradation. Zunächst gelang es, die Serum-Konzentrationen der CL bei Niereninsuffizienz zu bestimmen, da hier deutlich erhöhte Serum-Konzentrationen vorliegen [57]. Inzwischen wurden verschiedene Methoden veröffentlicht, die eine Messung der CL im Serum ermöglichen. Teilweise korrelierten dabei die Serumkonzentrationen mit den Werten der CL-Ausscheidung im Urin [115]. In unserer Arbeitsgruppe wurde die Bestimmung der Serumkonzentrationen durch eine veränderte Probenvorbereitung mit erhöhten Serum-Ausgangsvolumina im Vergleich zur Urin-Bestimmung und einer Erhöhung des Injektionsvolumens bei der HPLC realisiert.

## **1.4.     Ableitung der Fragestellung**

### *Komplex 1:    CL bei der OAP*

Wie szintigrafische, pathomorphologische und histomorphometrische Befunde gezeigt haben, kommt es im Rahmen der Psoriasis-Krankheit neben der weniger häufigen Arthritis in den meisten Fällen zu einer Knochenmanifestation, die sich durch einen gesteigerten Umbau der Knochenmatrix auszeichnet. Dabei werden Gemeinsamkeiten in der Pathogenese der Hautmanifestation einerseits und der Knochen- bzw. Gelenkmanifestation andererseits angenommen. Unklar ist dabei jedoch, ob sich dies auch in einer vergleichbaren Intensität der verschiedenen Manifestationen niederschlägt. Den beiden Prozessen Knochenumbau und Knorpeldegradation gemeinsam ist der dabei stattfindende Kollagenabbau und die resultierende Freisetzung der Kollagen-CL Pyridinolin (Knochen und Knorpel) und Desoxypyridinolin (Knochen). Wie für verschiedene Krankheiten mit erhöhtem Kollagenabbau, wie z.B. RA oder OP, gezeigt werden konnte, spiegelt die Höhe der CL-Ausscheidung die Intensität dieser degradativen Prozesse wider. Zudem wird diskutiert, daß das Verhältnis beider CL zueinander Rückschlüsse auf deren Herkunft (Knochen oder Knorpel) zulassen könnte. Im Rahmen dieser Arbeit sollten diesbezüglich Antworten auf folgende Fragen gefunden werden.

1. Findet sich bei der OAP, das heißt bei den Patienten mit Arthritis psoriatica (Ap) und Psoriasis ohne Arthritis (PS), im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe eine erhöhte CL-Ausscheidung?
2. Korreliert die Schwere der psoriatischen Hautmanifestation mit der Höhe der CL-Ausscheidung bei der PS bzw. der Ap?
3. Besteht eine Assoziation zwischen der Arthritisaktivität und der CL-Ausscheidung?
4. Welche Gemeinsamkeiten bzw. Unterschiede bestehen bezüglich der CL-Ausscheidung zwischen den beiden chronischen Arthritisformen Ap und RA?

### *Komplex 2:    Krankheitsunabhängige Einflußfaktoren auf die CL-Ausscheidung*

In mehreren Studien wurden Unterschiede in der CL-Ausscheidung zwischen Männern und Frauen festgestellt. Insbesondere wurde ein deutlicher Anstieg der CL-Ausscheidung bei postmenopausalen Frauen gefunden. In einigen Publikationen wurde auch eine Altersabhängigkeit der CL-Ausscheidung bei Männern berichtet. Diese Differenzen werden

auf geschlechtsspezifische Unterschiede und altersabhängige Änderungen im Hormonhaushalt zurückgeführt. In unserer Untersuchung interessierten uns deshalb folgende Fragen:

1. Finden sich diese geschlechtsspezifischen Unterschiede in der CL-Ausscheidung in unserer Kontrollgruppe und können diese auch bei der Ap festgestellt werden?
2. Welchen Einfluß übt das Alter auf die CL-Ausscheidung aus und muß dieser bei der Bewertung der Höhe der CL-Ausscheidung berücksichtigt werden?

*Komplex 3: Vergleich verschiedener biochemischer Marker bei der Ap*

Bislang konnten die CL aufgrund der geringen Konzentrationen im Serum nicht quantifiziert werden. Durch die Modifizierung der Meßmethode gelang unserer Arbeitsgruppe die Quantifizierung der CL nicht nur im Urin, sondern auch im Serum. Als weitere biochemische Marker der Kollagen Degradation dienen Hydroxyprolin (Hyp) und das N-Telopeptid (NTx). Bei der OAP (Ap und PS) ist eine erhöhte Ausscheidung von Hyp nachgewiesen worden, wobei diese zum Teil auf den erhöhten Kollagenumsatz in der Haut zurückgeführt wurde [44]. Der Kollagen-I-Degradationsmarker NTx hat sich bei verschiedenen Krankheiten mit erhöhtem Knochenumsatz als sensibler Marker der Krankheitsaktivität erwiesen. Bei den eigenen Untersuchungen ging es um die Klärung folgender Fragen:

1. Korrelieren die CL-Spiegel im Serum mit denen im Urin und hat die Messung im Serum eine höhere diagnostische Aussagekraft als die im Urin?
2. Zeigt die Hyp-Ausscheidung neben der Abhängigkeit vom Ausmaß der Hautmanifestation auch eine Korrelation mit der Arthritisaktivität?
3. Wie verhalten sich Hyp und NTx im Vergleich zu den CL bei der Ap?



## **II. Patientengut, Material und Methode**

### **2.1. Patientengut**

#### **2.1.1. Arthritis psoriatica**

In der Untersuchung sind 65 Patienten mit Ap der rheumatologischen Fachambulanz und der rheumatologischen Station der Klinik für Innere Medizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena in den Jahren 1993 bis 1995 erfaßt worden. Kriterium war eine gesicherte Arthritis psoriatica (modifizierte Kriterien nach MATHIES [25]). Es wurden Urin- und Serumproben gewonnen und in beiden Medien die Pyd- und Dpyd-Konzentration mittels HPLC bestimmt. Die Messung der als Bezugsgröße erforderlichen Kreatininkonzentration im Urin erfolgte am Tag der Abnahme.

Aus den Krankenakten standen folgende zeitnah gewonnenen Daten zur Verfügung:

1. Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG)
2. C-reaktive Protein (CrP)
3. der Grad der Arthritisaktivität nach OTTO [88] auf einer ordinalen Skala von 0 bis 3
4. PASI (Psoriasis Area and Severity Index).

Bei einem Teil der Patienten wurden zusätzlich als weitere Marker der Kollagen Degradation Hydroxyprolin im Urin (54 Patienten) sowie N-Telopeptid im Urin (37 Patienten) bestimmt.

Epidemiologische Angaben zum Patientenkollektiv finden sich in Tabelle 2. Die Patienten wurden nach dem Grad der Arthritisaktivität in zwei Subgruppen unterteilt - eine Gruppe mit aktiver Arthritis (aAp) (Grad 2 und 3) und eine Gruppe mit inaktiver bzw. gering aktiver Arthritis (iAp) (Grad 0 und 1). 19 Patienten, d.h. 29% der Gesamtgruppe erfüllten die Kriterien der aktiven Arthritis. Das Geschlechterverhältnis war in der Gesamtgruppe ausgeglichen, jedoch überwogen die Frauen in der Gruppe mit aktiver Arthritis deutlich im Verhältnis 2,2 : 1. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 50,6 Jahre. Für die Homogenität des Kollektivs spricht, daß auch in allen Untergruppen ein durchschnittliches Alter von 50 bis 51 Jahren gefunden wurde.

Tabelle 2 Allgemeine Angaben zur Ap-Patientengruppe

Diagnose	Insgesamt			weiblich			männlich			Frauen / Männer
	n	Alter	SD	n	Alter	SD	n	Alter	SD	
Ap	65	50,6	11,1	34	50,1	11,3	31	51,0	11,1	1,1 : 1
aAp	19	50,6	11,5	13	50,2	11,9	6	51,4	11,6	2,2 : 1
iAp	46	50,5	11,1	21	50,0	11,3	25	51,0	11,2	1 : 1,2

### 2.1.2. Vergleichsgruppen

#### Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe setzte sich aus 42 Frauen und 37 Männern mit einem Durchschnittsalter von 38,6 Jahren zusammen. Diese wiesen keine Erkrankungen des Stütz- und Bindegewebes auf.

(Die demografischen Daten aller Vergleichsgruppen der sind Tabelle 3 zu entnehmen.)

#### Psoriasis ohne Arthritis

Weiterhin wurde eine Gruppe von 22 Patienten mit Psoriasis vulgaris in der Ambulanz der Hautklinik der FSU Jena in den Jahren 1995 und 1996 untersucht. Einschlusskriterium war eine gesicherte Psoriasis ohne Zeichen bzw. anamnestische Angaben einer aktuellen oder abgelaufenen Arthritis. Die Gruppe setzte sich aus 8 Frauen und 14 Männern mit einem Durchschnittsalter von 42,2 Jahren zusammen. Bei diesen Patienten erfolgten wie bei der Ap-Gruppe Bestimmungen der Kollagen-Crosslinks im Serum und im Urin sowie die Bestimmung der Kreatininkonzentration im Urin. Zusätzlich wurde von den Untersuchern der PASI bestimmt. Auf die Messung der BSG und der CrP wurde verzichtet, da bei diesem Krankheitsbild keine systemische Entzündungsreaktion vorliegt und demzufolge Normabweichungen nicht zu erwarten waren.

#### Rheumatoide Arthritis

Zum Vergleich der Ap mit der Rheumatoiden Arthritis (RA) wurde eine Gruppe von 119 Patienten mit sicherer RA (revidierte ARA-Kriterien) herangezogen, bei der im Rahmen anderer Studien in unserer Arbeitsgruppe mit der gleichen Methode die Crosslink-Ausscheidung im Urin bestimmt wurden. Neben den Crosslinks konnten auch die BSG und das CrP mit in die vergleichende Untersuchung einbezogen werden. In dieser Gruppe

überwog die Anzahl der Frauen gegenüber den Männern deutlich mit 8,2 : 1. Das Durchschnittsalter betrug 52,9 Jahre.

## Osteoporose

Als weitere Vergleichsgruppe dienten ebenfalls in der Arbeitsgruppe untersuchte Patienten mit einer high turnover Osteoporose (OP). Einschlusskriterien waren bei bestehender Klinik mit v.a. Rückenbeschwerden, eine Verminderung der Knochendichte im Osteoporosebereich und ein high-turnover remodelling in der Histomorphometrie eines Beckenkammbiopsates. Hier überwogen unter den aufgenommenen 83 Patienten ebenfalls die Frauen mit 5,4 : 1 deutlich. Das Durchschnittsalter betrug 58,2 Jahre. Bei diesen Patienten war die Crosslink-Ausscheidung im Urin gemessen worden.

Tabelle 3 Demografische Angaben zu den Vergleichsgruppen

Diagnose <sup>1)</sup>	Insgesamt			weiblich			männlich			Frauen / Männer
	n	Alter	SD	n	Alter	SD	n	Alter	SD	
Ko	79	38,6	10,7	42	38,0	10,5	37	39,4	11,0	1,1 : 1
PS	22	42,2	12,8	8	40,5	11,5	14	43,2	13,8	1 : 1,8
RA	119	52,9	13,7	106	52,7	13,6	13	54,1	14,4	8,2 : 1
OP	83	58,2	11,1	70	60,3	9,2	13	47,3	13,7	5,4 : 1

<sup>1)</sup> Ko – gesunde Kontrollgruppe, PS – Psoriasis vulgaris ohne Arthritis, RA – Rheumatooidarthritis, OP – high turnover Osteoporose, n – Anzahl der Probanden, SD – Standardabweichung vom Durchschnittsalter

## 2.2. Bestimmung der Kollagen-Crosslinks mittels HPLC

### 2.2.1. Chemikalien

Acetonitril, HPLC-Wasser, das Ionenpaar-Reagenz Heptafluorbuttersäure (HFBA), N-Butanol, 100%ige Essigsäure und eine RP-18 Säule (LiChrospher 100 5 µm) wurden von der Firma Merck Co., Darmstadt bezogen. Weiterhin wurden CF1-Zellulose der Firma Sigma Co., Deisenhofen sowie Pyd und Dpyd der Firma Immundiagnostik, Heidelberg in einer Konzentrationsreihe zwischen 300 und 700 nmol/l für Pyd und 150 bis 350 nmol/l für Dpyd als externe Standards genutzt. Als interner Standard wurde Isodesmosin von der Firma ICN Biochemicals GmbH, Eschwege verwandt.

### 2.2.2. Probenvorbereitung bei Urin

Als Urinprobe verwendeten wir Spontanurin, der vormittags zwischen 7:00 und 11:00 Uhr gewonnen wurde. Nach erfolgter Zentrifugation mit 3000 g bei 4°C wurden die Proben bei -80°C aufbewahrt. Für jeden Urin wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt.

Die Probenvorbereitung erfolgte in Modifikation der Methode nach JAMES [59]. Für jede Probe wurden je 250 µl Urin mit 32%er HCl im Volumenverhältnis 1:1 versetzt und 17 h bei 110°C in braunen Spießglasampullen **hydrolysiert**, wodurch eine peptidfreie Lösung entsteht und die Crosslinks damit in freier Form vorliegen.

Danach wurde das Hydrolysat mittels einer manuellen **Partitionschromatografie** an einer CF-1-Zellulose-Säule gereinigt. Als mobile Phase dient ein N-Butanol-Essigsäure-Wasser-Gemisch im Volumenverhältnis 4:1:1. Die Säule besteht aus einer mit Glaswolle gestopften Pipettenspitze (5 ml Gilson Pipette), auf die 5ml CF-1-Slurry (5% CF-1-Zellulose in mobiler Phase) gegeben wurde. Die Hydrolysate wurden mit 0,5 ml CF-1-Slurry, 0,5 ml Essigsäure und 2 ml N-Butanol gemischt und auf die CF-1-Säule gegeben. Dabei absorbieren die Crosslinks an der Zellulose. Nach einer zusätzlichen Spülung der Ampulle mit 2 ml mobiler Phase und Gabe auf die Säule wurde diese dreimal mit 5 ml mobiler Phase ausgewaschen und anschließend mittels Druckluft trockengeblasen. Anschließend wurde 5 ml Wasser auf die Säule gegeben und damit die CL eluiert. Das Eluat wurde in Falcon-Röhrchen zur Phasentrennung 10 min bei 2000 U/min zentrifugiert und danach die wässrige Phase in Rollrandgläschen überführt, tiefgefroren und gefriergetrocknet. Die trockenen Lyophilisate wurden mit 250 µl Loading buffer (1%iges HFBA in Wasser auf einen pH-Wert von 3,5 eingestellt) gelöst und bei -20°C bis zur Messung aufbewahrt. Die Modifikationen gegenüber der manuellen Methode nach JAMES [59] stellen das größere Volumen der mobilen Phase und das unterschiedliche Instrumentarium dar.

### 2.2.3. HPLC

Die Bestimmung beider Pyridinium-Crosslinks erfolgte mit Hilfe der Ion-Pair-Reversed-Phase HPLC mit Gradiententrennung an einer RP-18-Säule mittels Fluoreszenzdetektion in Anlehnung an BLACK [8] und SEIBEL [109], modifiziert von COLWELL [18]. Das verwendete Instrumentarium der Firma Merck Co., Darmstadt umfasst die Pumpe L 6220, den Fluoreszenzdetektor F 1080, den Autosampler AS 4000 und das Computerinterface D 6000. Die für den Gradienten benötigten Laufmittel sind der Puffer A (10 mmol/l HFBA in HPLC-Wasser) und der Puffer B (75% Acetonitril, 25% Puffer A). Das Zeitprogramm umfasst die

isokratische Trennung zwischen Minute 0 und 19 (90% A / 10% B), eine Reinigung zwischen der Minute 19 und 27 (50% A / 50% B zu 10% A / 90% B) und die Äquilibration zur Erreichung des Ausgangsgleichgewichts zwischen Minute 27 und 31 (90% A / 10% B). Die Flussrate betrug 1 ml/min. Für die Regeneration der Säule diente ein Waschprogramm unter Verwendung von Acetonitril zur Reinigung der Säule von interferierenden Substanzen. Die HPLC-Methode entspricht der von COLLWELL [18] beschriebenen mit Modifikationen im Zeitprogramm, der Säule und des pH-Wertes des Puffer A. Das Probeninjektionsvolumen betrug bei den Urinproben 50 µl. Die quantitative Erfassung kann auf Grund der Eigenfluoreszenz der Pyridinium-CL mit Hilfe eines Fluoreszenzdetektors (Extinktion 295 nm und Emission 395 nm) erfolgen. Das Ergebnis stellt sich als Kurve der Fluoreszenzintensität im Zeitverlauf dar.

#### 2.2.4. Crosslinkskonzentration im Serum

Die für die Serumgewinnung erforderlichen Blutproben wurden zeitgleich mit der Gewinnung der Urinprobe abgenommen. Nach der Serumgewinnung wurden die Proben bei -80°C aufbewahrt. Die Probenvorbereitung für die HPLC erfolgte analog zur Urinprobe mit den Schritten Hydrolyse, Reinigung und Eluierung, Gefriertrocknung und Lösung in einem Loading Buffer. Im Unterschied zur beschriebenen Methode beim Urin wurde primär 1ml Serum hydrolysiert und dementsprechend auch mehr CF-1-Slurry benötigt. Die Konditionierung der Säule erfolgte zuerst mit 8ml CF-1-Slurry und die Hydrolysate wurden mit je 1ml CF-1-Slurry, Essigsäure und 4ml N-Butanol gemischt und auf die Säule überführt. Die Lösung der Lyophilisate erfolgte mit 400 µl Puffer A. Das Injektionsvolumen bei der HPLC betrug bei den Serumproben 200 µl.

Mittels dieser Änderungen konnte die initiale CL-Konzentration bzw. Menge erhöht werden, was zu einer besseren Reproduzierbarkeit führte.

Für die Quantifizierung wurde die HPLC-Methode unter Verwendung eines externen Standards, der definierte Mengen an reinem Pyd bzw. Dpyd (Firma Immundiagnostik, Heidelberg) enthielt, durch Zweipunkteichung kalibriert. Die Nachweisgrenze des Assays lag bei 25 fmol für Pyd und 56 fmol für Dpyd. Die Interassayvariation wurde mit auf unterschiedliche CL-Konzentrationen eingestellten gepoolten Urinproben ermittelt. Die Recovery (Mittelwert ± SD) betrug bei der gepoolten Urin-Probe 1 528 nmol/l ± 10,6% für Pyd und 124 nmol/l ± 16,4% für Dpyd. Für die Urin-Probe 2 616 nmol/l ± 12,4% für Pyd und 160 nmol/l ± 17,6% für Dpyd. Die Recovery (Mittelwert ± SD) bei den gepoolten

Serumproben betrug bei der Serum-Probe 1  $10,6 \text{ nmol/l} \pm 30,2\%$  für Pyd und  $4,9 \text{ nmol/l} \pm 32,1\%$  für Dpyd und bei der Serum-Probe 2  $12,4 \text{ nmol/l} \pm 28,5\%$  für Pyd und  $5,7 \text{ nmol/l} \pm 29,5\%$  für Dpyd.

Die Intraassayvariation betrug mit gepoolten Urinproben für Pyd 5,12% bzw. 4,31% sowie für Dpyd 9,12% bzw. 5,34% in den Urin-Proben 1 und 2. Mit gepoolten Serumproben betrug die Intraassayvariation bei Pyd 14,1% und bei Dpyd 19,3%. Zusätzlich wurde jeder Probe Isodesmosin als interner Standard hinzugegeben, dessen Konzentration mit einem UV-Detektor bei einer Wellenlänge von 280 nm ermittelt wurde. Die CI-Werte wurden auf die Kreatinausscheidung korrigiert, welches vom gleichen Urin bestimmt wurde.

### **2.3. Bestimmung von Hydroxyprolin im Urin**

Bei 54 Patienten wurde die **Hydroxyprolinkonzentration (Hyp) im Urin** gemessen.

#### **2.3.1. Chemikalien:**

Methanol und HPLC-Wasser, Borsäure, Essigsäure, Phthaldialdehyd, 7-Chlor-4-Nitrobenzoflurazan (NBD-Cl), 3,4-Dehydroprolin (interner Standard), wasserfreies Dinatriumhydrogenphosphat, Zitronensäure, Trinatriumcitratdihydrat, Natriumazetat, Dowex<sup>®</sup> 50 WX 8 und die RP18 Säule (Purospher 5  $\mu\text{m}$ ) wurden von der Firma Merck Co Darmstadt bezogen.

#### **2.3.2. Probenvorbereitung und Bestimmung mittels HPLC**

Die Urinproben (250  $\mu\text{l}$ ) wurden gemäß einer Modifikation der von PANG [89] beschriebenen Methode in Gegenwart eines starken Ionenaustauscher-Harzes (Dowex W-X8( $\text{H}^+$ )) mit Phosphat-Zitronensäure-Puffer versetzt und die Urinpeptide bei  $115^\circ\text{C}$  16 Stunden (über Nacht) hydrolysiert. Danach erfolgte die Lösung der Aminosäuren in einem Acetat-Zitrat-Zitronensäure-Puffer.

Wir verwendeten 3,4-Dehydroprolin als internen Standard, um die Reproduzierbarkeit der Methode zu erhöhen und systematische sowie zufällige Fehler zu minimieren. Hydroxyprolin wurde mit Hilfe einer Reversed-Phase-Chromatografie und Gradienten-Trennung an einer RP18-Säule nach Derivatisierung mittels Fluoreszenz-Detektion gemessen (Extinktion 470

nm, Emmission 530 nm). Die modifizierte HPLC-Methode enthält eine vollautomatische vorgeschaltete Derivatisierung mit NBD-Cl, unter Nutzung der Roboter-Funktionen des Autosamplers. Die Proben wurden unmittelbar danach analysiert. Das Injektionsvolumen für die HPLC betrug 40 µl. Es erfolgten Doppelbestimmungen mittels HPLC und die Ergebnisse wurden mit der Kreatininkonzentration im Urin ins Verhältnis gesetzt [84].

## **2.4. *N-Telopeptid***

Desweiteren wurde bei 37 Patienten der gleichen Patientengruppe das **N-terminale Telopeptid (NTx) im Urin** mit einem Enzymimmunoassay ELitest<sup>®</sup> der Firma Brahms Diagnostica GmbH gemessen. Das Ergebnis wurde ebenfalls mit der Kreatininkonzentration im Urin ins Verhältnis gesetzt.

## **2.5. *Klinische und paraklinische Vergleichsparameter***

### **2.5.1. Aktivitätsgrad der Arthritis**

Die Einschätzung des Aktivitätsgrades erfolgte in Anlehnung an die bei der Rheumatoiden Arthritis für Gruppeneinteilungen im Rahmen wissenschaftlicher Untersuchungen akzeptable Graduierung nach OTTO [88]. Hierbei gehen klinische Kriterien wie die Hyperthermie der Gelenke, das Ausmaß exsudativer Erscheinungen und die Zahl der betroffenen Gelenke sowie objektive biochemische Parameter wie die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) und das C-reaktive Protein (CrP) als Entzündungsmarker in die Auswertung ein [123]. Für jeden Parameter wird nach einer Graduierung ein Punktwert von 0 bis 3 bestimmt. Der Durchschnitt der Punktwerte ergibt den Aktivitätsgrad von A0 bis A3.

### **2.5.2. BSG und CrP**

Die Bestimmung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit wurde mit der Methode nach WESTERGREN durchgeführt [130] und nach ein sowie zwei Stunden abgelesen. In der Untersuchung wurde der 1h-Wert verwandt.

Das C-reaktive Protein wurde quantitativ mit der Methode der Immunnephelometrie gemessen [124].

Die Bestimmung beider Parameter erfolgte zum Zeitpunkt der Probengewinnung oder konnte im Falle vom CrP von den zeitgleich abgenommenen und bei einer Temperatur von -80°C aufbewahrten Seren zu einem späteren Zeitpunkt erfolgen.

### 2.5.3. PASI

Als quantitatives Maß für den Hautbefall bei der Psoriasis ist der PASI ein wertvolles und akzeptiertes Instrument [80]. In diesen Index gehen sowohl die Gesamtfläche der befallenen Haut als auch die Schwere der Effloreszenzen in ein metrisches Maß zwischen 0 und 70 ein.

## 2.6. *Auswertung und Statistik*

Die statistische Auswertung und die Erstellung der Grafiken erfolgte mit dem Computer-Statistikprogramm SPSS 8.0d.

Es wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen der einzelnen Parameter für die einzelnen Krankheitskollektive und deren Untergruppen berechnet. Zur Testung der Mittelwertdifferenzen der Kollagen-Crosslinks zwischen dem Ap-Kollektiv und dem Kontrollkollektiv, zwischen den Untergruppen des Ap-Kollektivs und zwischen den Kollektiven mit verschiedenen Krankheiten kam der Mann-Whitney-U-Test als nichtparametrischer Test zur Anwendung. Die geforderte Signifikanz einer Mittelwertdifferenz wurde mit  $\alpha < 0,05$  festgelegt, was einer Irrtumswahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art von unter 5% entspricht.

Zur Untersuchung von Zusammenhängen zwischen den Kollagen-Crosslinks und den metrischen biochemischen Parametern sowie dem ebenfalls metrischen PASI wurde der nichtparametrische Korrelationskoeffizient nach Spearman berechnet, da zumindest bei den Ap-Untergruppen nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte. Für die Untersuchung auf Korrelationen mit dem Aktivitätsgrad wurde der für ordinale Parameter geeignete Kendall-Tau-b-Korrelationstest gewählt.

Zum Ausschluß der Störfaktoren Alter und Geschlecht wurden matched pairs zwischen unterschiedlichen Krankheitsgruppen gebildet und mit dem Wilcoxon-Test auf signifikante Gruppenunterschiede geprüft.



### III. Ergebnisse

#### 3.1. Crosslinks (Cl) bei der Ap

##### 3.1.1. Messung im Serum und im Urin

Die Ergebnisse der Kollagen-Crosslinks-Spiegel im Urin und im Serum sind in der Tabelle 4 zusammengefasst. Zusätzlich wurden die Werte der Kontrollgruppe aufgenommen. Die p-Werte geben die statistische Sicherheit im Mittelwertvergleich zur Kontrollgruppe an.

Danach zeigen beide Pyridinium-Crosslinks bei der Ap im Vergleich zur Kontrolle eine signifikant höhere Ausscheidung im **Urin** (Pyd 41,4 vs. 30,7 und Dpyd 10,8 vs. 9,0), wobei die Werte in der Untergruppe mit aktiver Ap noch höher ausfallen (Pyd 58,1 und Dpyd 13,7). Die Gruppe mit inaktiver Arthritis weist dagegen nur eine geringfügige Erhöhung der Crosslinks auf, die nur im Falle von Pyd statistisch signifikant ist. Die Relation Pyd/Dpyd lässt nur bei der aktiven Ap eine Tendenz zu höheren Werte erkennen (4,5 vs. 3,9), allerdings ohne statistische Signifikanz.

Im **Serum** ermittelten wir dagegen bei der Ap entgegen den Erwartungen signifikant niedrigere CL-Spiegel als bei der Kontrolle (Pyd 6,2 vs. 9,0 und Dpyd 3,3 vs. 7,3), was hier wiederum auf die deutlich niedrigeren Werte bei der inaktiven Arthritis zurückzuführen ist. Hingegen waren bei der aktiven Arthritis keine signifikanten Unterschiede zur Kontrolle, auch nicht im Verhältnis Pyd/Dpyd festzustellen.

Tabelle 4 Kollagen-Crosslinks bei der Ap und der gesunden Kontrolle mit Signifikanz der Mittelwertunterschiede im Vergleich zur Kontrolle

		<sup>1)</sup>	Kontrolle	Ap gesamt	p <sup>2)</sup>	Ap aktiv	p <sup>2)</sup>	Ap inaktiv	p <sup>2)</sup>
Urin	Pyd <sup>3)</sup>	MW ± SD n	30,7 ± 14,5 79	41,4 ± 18,4 61	0,0001	58,1 ± 18,9 17	0,0001	34,9 ± 13,7 44	0,042
	Dpyd	MW ± SD n	9,0 ± 5,1 78	10,8 ± 4,7 61	0,008	13,7 ± 5,1 17	0,001	9,7 ± 4,1 44	n.s.
	Pyd/Dpyd	MW ± SD n	3,6 ± 1,5 78	4,1 ± 1,5 61	n.s.	4,5 ± 1,5 17	(0,053)	3,9 ± 1,5 44	n.s.
Serum	Pyd	MW ± SD n	9,0 ± 4,7 42	6,2 ± 4,7 62	0,001	8,5 ± 5,0 17	n.s.	5,3 ± 4,3 45	0,0001
	Dpyd	MW ± SD n	7,3 ± 5,7 35	3,3 ± 3,1 62	0,010	4,9 ± 3,8 17	n.s.	3,6 ± 2,7 45	0,005
	Pyd/Dpyd	MW ± SD n	2,5 ± 2,1 35	2,6 ± 3,6 62	n.s.	2,9 ± 3,1 17	n.s.	2,4 ± 3,8 45	n.s.

<sup>1)</sup> MW – Mittelwert, SD – Standardabweichung, n – Patientenzahl;

<sup>2)</sup> Signifikanz der Mittelwertdifferenz zur Kontrollgruppe im Mann-Whitney-U-Test;

<sup>3)</sup>Pyd und Dpyd im *Urin* in nmol/mmol Kreatinin; Pyd und Dpyd im *Serum* in nmol/l;

### Korrelationen der Crosslinks zueinander

Zur genaueren Untersuchung der sich so deutlich unterscheidenden Ergebnisse der Messungen im Urin und im Serum wurde geprüft, inwieweit die Urin- und Serum-Werte miteinander korrelieren, also ob die momentanen Serumkonzentrationen der Crosslinks der Höhe der CL-Ausscheidung im Urin entsprechen (Tabelle 5). Dabei wurde weder im Falle von Pyd, Dpyd noch bei deren Quotienten Pyd/Dpyd eine Korrelation der Urin- und Serum-Werte miteinander gefunden. Lediglich im männlichen Kollektiv zeigte sich eine Korrelation zwischen den Dpyd-Werte in beiden Medien ( $r=0,50$  mit  $p=0,007$  bei  $n=27$ ).

Tabelle 5 Korrelation von Urin- zu Serumwerten der Crosslinks im Ap-Kollektiv

Urin/Serum bei	Pyd	Dpyd	Pyd/Dpyd
r	0,00	0,20	0,15
p	n.s.	n.s.	n.s.
n	59	59	59

Im weiteren wurden die Beziehungen zwischen den Pyd- und Dpyd-Werten im jeweiligen Medium untersucht. Hier konnte nur bei den Urin-CL eine statistisch signifikante Korrelation ermittelt werden (Abbildungen 3, und 4, Tabelle 6).

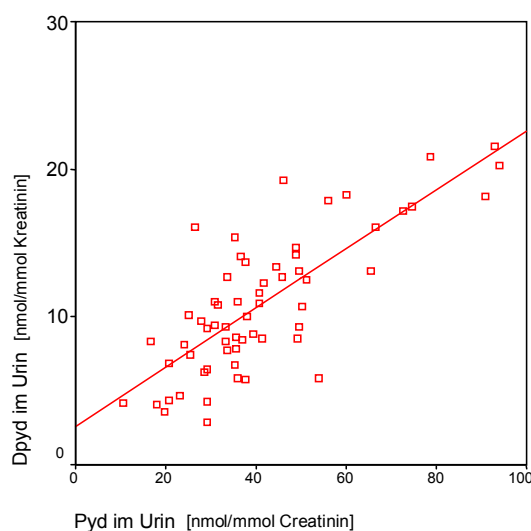


Abbildung 3 Beziehung zwischen Pyd und Dpyd im Urin ( $r = 0,71$ )

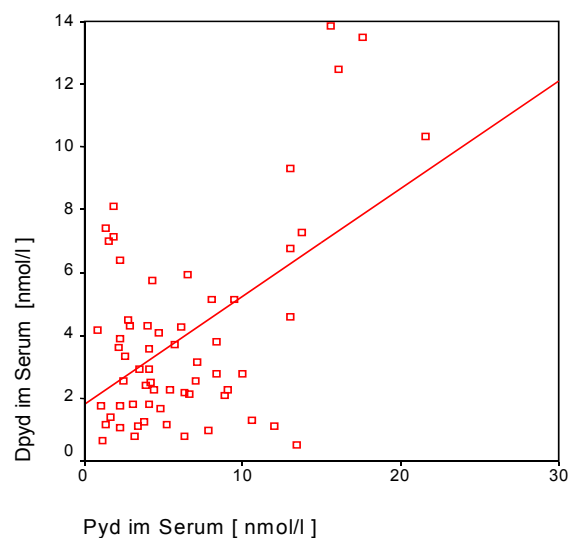


Abbildung 4 Beziehung zwischen Pyd und Dpyd im Serum ( $r = 0,19$ )

Tabelle 6 Korrelation zwischen Pyd und Dpyd im jeweiligen Untersuchungsmaterial

Pyd / Dpyd im	Urin	Serum
r	0,71	0,19
p	0,000	n.s.
n	61	62

**Zusammenfassend** kann festgestellt werden, dass nur die im Urin gemessenen Crosslinks in der Ap-Gesamtgruppe miteinander korrelierten und auch nur im Urin ein Anstieg der Crosslinks im Zusammenhang mit der Arthritisaktivität gesichert werden konnte. Damit scheinen diese im Vergleich zu den Serumwerten eine höhere Aussagekraft zu besitzen.

### 3.1.2. CL in Abhängigkeit von der Arthritisaktivität

Wie schon im Vorabschnitt gezeigt wurde (Tabelle 4), weist die Crosslink-Ausscheidung im Urin in der Gruppe mit aktiver Arthritis im Vergleich zur Kontrolle deutlich höhere Werte auf, die auch im Vergleich zur Gruppe mit inaktiver Arthritis signifikant höher liegen. Dabei fiel diese Erhöhung bei den Männern deutlicher aus als bei den Frauen (Tabelle 7). Der Quotient Pyd/Dpyd ändert sich dagegen als Ausdruck des gleichzeitigen Anstieges beider Crosslinks nur gering und nicht signifikant.

Tabelle 7 Signifikanz\* der Mittelwertunterschiede der Crosslink-Ausscheidung im Urin und im Serum zwischen aktiver und inaktiver Ap

	Urin				Serum			
	aktiv : inaktiv	Pyd	Dpyd	Pyd/Dpyd	aktiv : inaktiv	Pyd	Dpyd	Pyd/Dpyd
gesamt	17 : 44	0,000	0,008	n.s.	17 : 45	0,019	n.s.	n.s.
Männer	5 : 24	0,000	0,004	n.s.	5 : 25	n.s.	n.s.	n.s.
Frauen	12 : 20	0,032	n.s.	n.s.	12 : 20	n.s.	n.s.	n.s.

\* Signifikanz im Mann-Whitney-Test

Ausdruck dieses Zusammenhanges sind auch die Korrelationen zwischen den Crosslinks und dem ordinalen Aktivitätsgrad (Tabelle 8). Mit zunehmender Arthritisaktivität steigt insbesondere Pyd, weniger deutlich auch Dpyd, nicht aber das Verhältnis Pyd/Dpyd. Für beide Geschlechter getrennt betrachtet fällt auf, dass dieser Zusammenhang insbesondere bei der männlichen Gruppe gilt, bei der weiblichen Gruppe jedoch nicht gefunden wurde. (Bei den Serumwerten konnten keine entsprechenden Zusammenhänge festgestellt werden.)

Tabelle 8 Korrelation der Crosslinks mit dem Aktivitätsgrad (0 bis 3)

	Urin						Serum					
	Pyd		Dpyd		Pyd/Dpyd		Pyd		Dpyd		Pyd/Dpyd	
	r <sup>1)</sup>	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
gesamt	0,44	0,000	0,33	0,002	0,16	n.s.	0,15	n.s.	0,16	n.s.	-0,04	n.s.
Männer	0,64	0,000	0,49	0,001	0,17	n.s.	0,21	n.s.	0,39	0,007	0,20	n.s.
Frauen	0,24	n.s.	0,19	n.s.	0,07	n.s.	0,12	n.s.	-0,02	n.s.	0,11	n.s.

<sup>1)</sup> Kendall-Tau-b-Korrelationskoeffizient

### 3.1.3. CL-Ausscheidung in Abhängigkeit von Geschlecht

Daraufhin wurde die Crosslink-Ausscheidung im Urin auf geschlechtsspezifische Unterschiede untersucht (Abbildung 5, Tabelle 9). Schon in der Kontrollgruppe liegen beide Crosslinks im Urin bei den Frauen signifikant höher als bei den Männern. Das Verhältnis von Pyd zu Dpyd verändert sich jedoch dadurch nicht.

Diese geschlechtsspezifischen Differenzen zeigen sich auch in der Gruppe mit inaktiver Ap, wobei die Urin-Werte von Pyd mit 41,6 vs. 29,2 und das Verhältnis Pyd/Dpyd mit 4,4 vs. 3,5 bei den Frauen signifikant höher liegen als bei den Männern.

Bei der aktiven Ap wurde dagegen bei beiden Geschlechtern eine vergleichbar hohe Pyd-Ausscheidung, allerdings eine Tendenz zur höheren Dpyd-Ausscheidung bei den Männern festgestellt, wobei dies bei der geringen Fallzahl insbesondere bei den Männern (n=5) statistisch nicht zu sichern war.

Betrachtet man das Verhältnis Pyd/Dpyd, fällt auf, daß dieses bei den Frauen im Gegensatz zu den Männern mit zunehmender Arthritisaktivität ansteigt. Abbildung 5

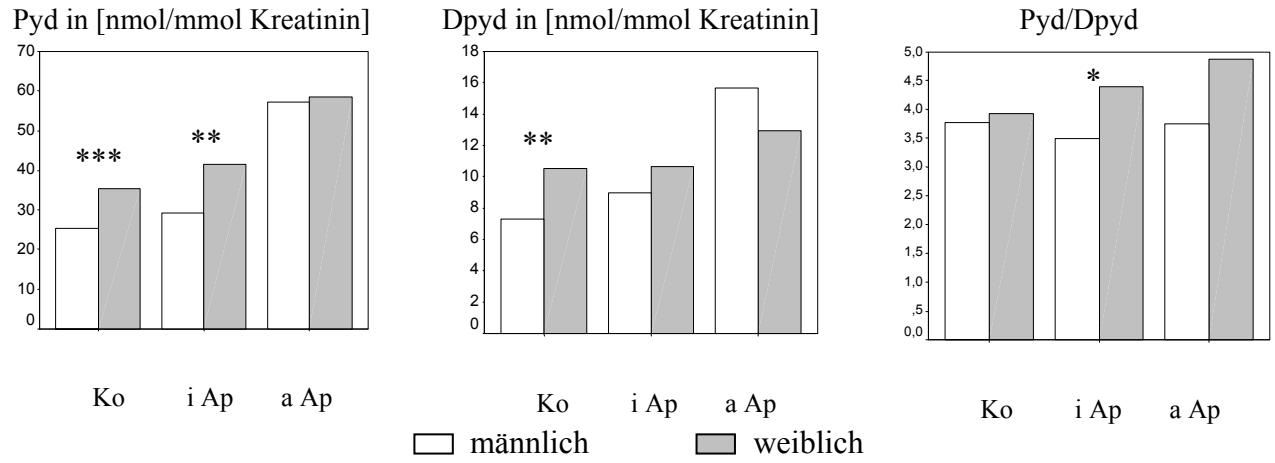
Im Serum unterschieden sich Männer und Frauen nur bei Pyd in der Kontrollgruppe. Die anderen Differenzen waren wegen der größeren Streuung der Werte nicht signifikant.

Tabelle 9 CL-Ausscheidung im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht bei der Ko, iAp und aAp

	Ko			iAp			aAp		
	männlich <sup>1)</sup>	weiblich	p <sup>2)</sup>	männlich	weiblich	p	männlich	weiblich	p
Pyd	25,3 ± 13,5 37	35,4 ± 13,9 42	0,000	29,2 ± 8,3 24	41,6 ± 15,7 20	0,001	57,2 ± 12,5 5	58,5 ± 21,5 12	n.s.
Dpyd	7,3 ± 3,6 37	10,5 ± 5,8 41	0,008	9,0 ± 3,3 24	10,6 ± 4,8 20	n.s.	15,6 ± 3,2 5	13,0 ± 5,6 12	n.s.
Pyd/ Dpyd	3,8 ± 1,5 37	3,9 ± 1,5 41	n.s.	3,5 ± 1,1 24	4,4 ± 1,7 20	0,035	3,8 ± 0,9 5	4,9 ± 1,7 12	n.s.

<sup>1)</sup> MW ± SD und <sup>2)</sup> Signifikanz p der MW-Diff. zwischen den Geschlechtern im Mann-Whitney-U-Test

Abbildung 5 CL-Ausscheidung im Urin in Abhängigkeit vom Geschlecht bei der gesunden Kontrolle, der inaktiven und aktiven Ap



Signifikanz der MW-Differenz zwischen den Geschlechtern \*=p<0,05; \*\*=p<0,01; \*\*\*=p<0,001 im Mann-Whitney-U-Test

### 3.1.4. CL und Alter

In der **Kontrollgruppe** fanden wir eine negative Korrelation der CL-Ausscheidung im Urin mit dem Alter (Tabelle 10). Abbildung 6 zeigt dies am Beispiel von Dpyd. Es fiel auf, dass bei den Männern beide Crosslinks eine annähernd gleich starke negative Korrelation zum Alter zeigten, bei den Frauen jedoch nur Pyd. Dpyd zeigt keinen Zusammenhang mit dem Alter (Abbildung 7). Im Serum wurden diese Beziehungen nicht gefunden.

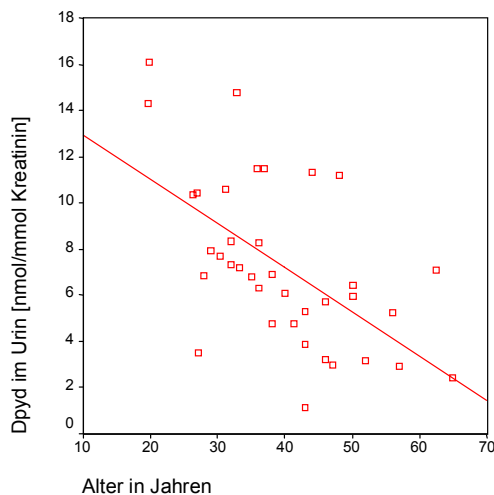


Abbildung 6 Abnahme der Dpyd-Ausscheidung mit dem Alter bei der männlichen Kontrollgruppe ( $r = -0,60$ )

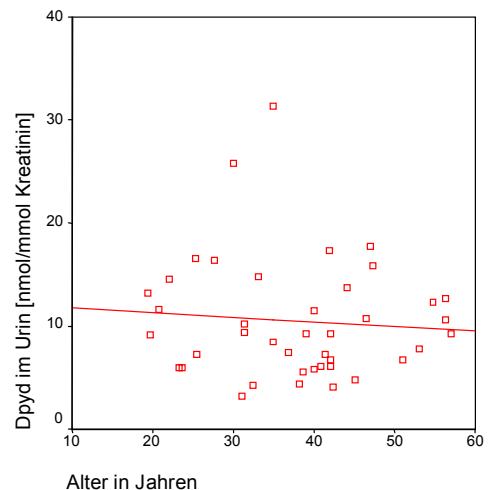


Abbildung 7 Dpyd-Ausscheidung in Beziehung zum Alter bei der weiblichen Kontrollgruppe ( $r = -0,02$ )

Tabelle 10 Korrelation der Crosslinks im Urin mit dem Alter in der Kontrollgruppe

	Pyd			Dpyd			Pyd/Dpyd		
	$r^{1)}$	p	n	r	p	n	r	p	n
Gesamt	-0,43	0,000	79	-0,29	0,009	78	-0,06	n.s.	78
Männlich	-0,50	0,002	37	-0,60	0,000	37	0,21	n.s.	37
Weiblich	-0,40	0,008	42	-0,02	n.s.	41	-0,26	n.s.	41

<sup>1)</sup> Spearman-Rho Korrelationskoeffizient

In der **Ap-Gruppe** konnte im Gegensatz zur Kontrollgruppe bei beiden Geschlechtern keine Abnahme der CL-Ausscheidung im Urin mit dem Alter beobachtet werden. Bei den Frauen mit aktiver Arthritis fanden wir mit zunehmendem Alter sogar einen signifikanten Anstieg von Dpyd ( $r = 0,69$  mit  $p=0,013$  bei  $n=12$ ,

Abbildung 8). Allerdings war das Durchschnittsalter in der weiblichen Ap-Gruppe mit 50,2 Jahren auch höher als in der Kontrollgruppe mit 38,0 Jahren, so dass diese Werte schon einen postmenopausalen Anstieg des Knochenumsatzes beinhalten könnten.<sup>2</sup> Abbildung 9 zeigt, dass auch unabhängig von der Arthritisaktivität die Dpyd-Ausscheidung mit dem Alter zunimmt.

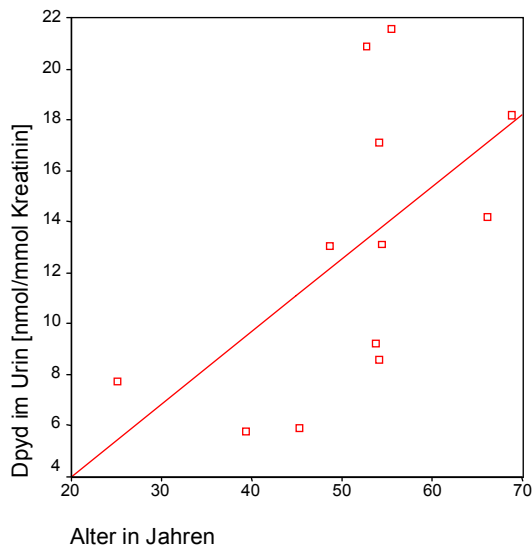


Abbildung 8 Dpyd-Ausscheidung bei Frauen mit aktiver Ap mit steigendem Alter ( $r = 0,69$ )

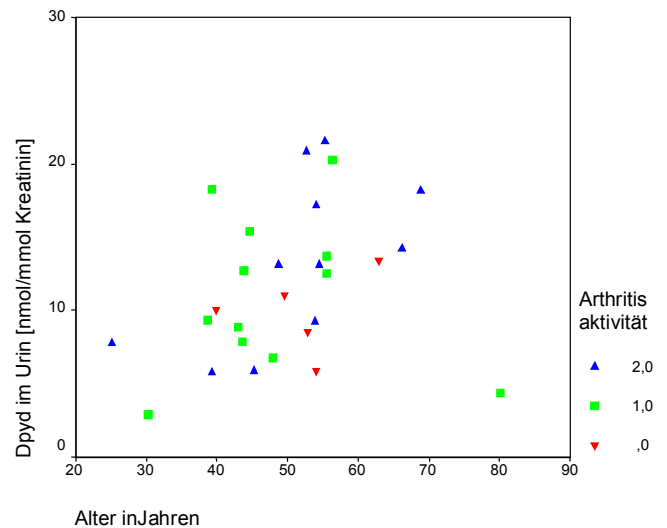


Abbildung 9 Dpyd-Ausscheidung bei Frauen mit Ap in Abhängigkeit von der Arthritisaktivität

<sup>2</sup> Es konnte ausgeschlossen werden, daß der Dpyd-Anstieg durch eine etwaige Zunahme der entzündlichen Aktivität mit dem Alter zu erklären wäre (keine Korrelation zwischen dem Alter und der BSG bzw. dem CrP).

### 3.1.5. CL und BSG bzw. CrP

Im folgenden wurden die Beziehungen der Crosslinksspiegel zu den biochemischen Entzündungsmarkern untersucht. In Tabelle 11 sind die Korrelationskoeffizienten mit dem entsprechenden Signifikanzniveau zusammengefasst. Pyd im Urin zeigt hochsignifikante Korrelationen mit den Entzündungsparametern CrP und BSG. Dpyd im Urin korreliert nur mit dem CrP.

Bei den Serumwerten konnten dagegen in der Gesamtgruppe keine signifikanten Korrelationen mit den Entzündungsparametern festgestellt werden.

Wie nach den obigen Ausführungen zu geschlechtsspezifischen Unterschieden zu erwarten war, fielen die Unterschiede auch hier deutlich aus. So wurden bei den Männern stärkere Korrelationen nachgewiesen, während sich bei den Frauen keine statistischen Zusammenhänge zeigten. Diese waren auch nicht unter Berücksichtigung des Alters oder eines evtl. modulierenden PASI festzustellen<sup>3</sup>.

Tabelle 11 Korrelationen der Crosslinks zum CrP und der BSG im Ap-Kollektiv

		Urin						Serum					
		Pyd		Dpyd		Pyd/Dpyd		Pyd		Dpyd		Pyd/Dpyd	
		r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
CrP	gesamt	0,49	0,000	0,28	0,039	0,24	n.s.	0,11	n.s.	0,24	n.s.	-0,13	n.s.
	männlich	0,63	0,000	0,39	0,043	0,31	n.s.	0,18	n.s.	0,48	0,010	-0,36	n.s.
	weiblich	0,33	n.s.	0,16	n.s.	0,15	n.s.	0,09	n.s.	0,02	n.s.	0,11	n.s.
BSG	gesamt	0,42	0,001	0,12	n.s.	0,45	0,0001	0,21	n.s.	0,09	n.s.	0,06	n.s.
	männlich	0,53	0,006	0,28	n.s.	0,36	n.s.	0,26	n.s.	0,40	0,042	-0,28	n.s.
	weiblich	0,18	n.s.	-0,03	n.s.	0,33	n.s.	0,20	n.s.	-0,07	n.s.	0,28	n.s.

<sup>3</sup> Partielle Korrelation mit den Kontrollvariablen Alter und PASI



### 3.1.6. CL und PASI

In Tabelle 12 sind die durchschnittlichen PASI-Werte im Ap-Kollektiv und deren Untergruppen verzeichnet. Zwischen den Untergruppen konnten keine signifikanten Mittelwertunterschiede festgestellt werden.

Tabelle 12 Mittelwerte und Standardabweichungen des PASI im Ap-Kollektiv

	Ap gesamt	aAp	iAp
gesamt	$9,6 \pm 8,1$ 59	$8,9 \pm 10,0$ 18	$9,9 \pm 7,2$ 41
männlich	$10,8 \pm 8,6$ 29	$9,8 \pm 12,6$ 6	$11,0 \pm 7,7$ 23
weiblich	$8,4 \pm 7,4$ 30	$8,4 \pm 9,1$ 12	$8,4 \pm 6,0$ 18

Weder in der Ap-Gesamtgruppe noch bei geschlechtsspezifischer Betrachtung wurden Korrelationen zwischen dem PASI, also dem Ausmaß und der Schwere der Psoriasis-Hautmanifestation und den Crosslinks als Marker der Osteoarthropathie gefunden.

### 3.1.7. CL und andere Kollagenedegradationsmarker

#### Hydroxyprolin

In der Tabelle 13 sind die Mittelwerte der Hydroxyprolin (Hyp)-Ausscheidung im Urin bei der Ap und den Untergruppen im Vergleich zur Kontrolle verzeichnet. Gegenüber der Kontrollgruppe fanden wir keine signifikanten MW-Differenzen. Jedoch zeigte sich ein signifikant höherer Mittelwert der Hyp-Ausscheidung in der Gruppe mit aktiver Ap im Vergleich zur Gruppe mit niedrig aktiver Ap. Dieser Unterschied fiel bei den Männern deutlich stärker aus als bei den Frauen.

Tabelle 13 Hyp-Ausscheidung bei der Ap im Vergleich zur Kontrolle

	Kontrolle <sup>1)</sup>	Ap	aAp	p <sup>2)</sup>	iAp	p <sup>3)</sup>
gesamt	22,5 ± 11,7 50	18,4 ± 7,4 54	22,5 ± 9,2 14	n.s.	17,0 ± 6,3 40	0,031
männlich	19,7 ± 8,6 34	16,9 ± 6,3 28	24,1 ± 3,8 5	n.s.	15,4 ± 5,6 23	0,009
weiblich	28,6 ± 15,1 16	20,0 ± 8,3 26	21,5 ± 11,3 9	n.s.	19,2 ± 6,6 17	n.s.

<sup>1)</sup> Angaben des Mittelwertes (in µmol/mmol Kreatinin) ± Standardabweichung und der Fallzahl;

<sup>2)</sup> Signifikanz der MW-Differenz aAp zur Kontrolle und <sup>3)</sup> iAp zur aAp im Mann-Whitney-U-Test

Die Abbildungen 10 und 11 zeigen die Mittelwerte von Hyp bei der aAp als Vielfaches der Mittelwerte in der Kontrollgruppe bzw. der iAp. Daneben sind die entsprechenden Relationen bei Pyd und Dpyd im Urin in der gleichen Stichprobe dargestellt. (Die entsprechenden Absolutwerte der CL sind der Tabelle 14 zu entnehmen.) Gegenüber der Kontrolle zeigte Hyp bei der aAp keine signifikant höheren Werte. Im Vergleich dazu fielen die Differenzen der CL im Urin sehr deutlich aus (Abbildung 10).

Im Vergleich mit der iAp findet sich bei der aAp eine signifikant höhere Hyp-Ausscheidung, wenngleich auch hier die entsprechenden Differenzen bei den CL, insbesondere von Pyd deutlicher ausfallen (Abbildung 11).

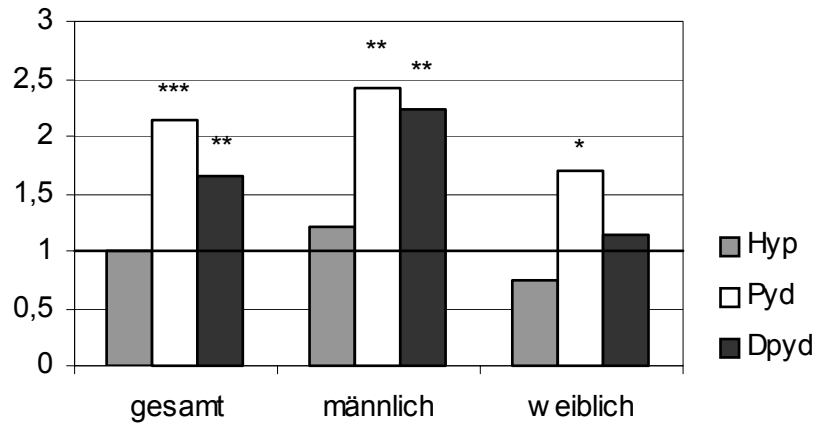


Abbildung 10 Mittelwerte von Hyp, Pyd und Dpyd bei der aAp als Vielfaches der jeweiligen Mittelwerte in der Kontrollgruppe.  
Signifikanz der MW-Differenzen zw. der Ko und aAp im Mann-Whitney-U-Test \*=p<0,05; \*\*=p<0,01; \*\*\*=p<0,001

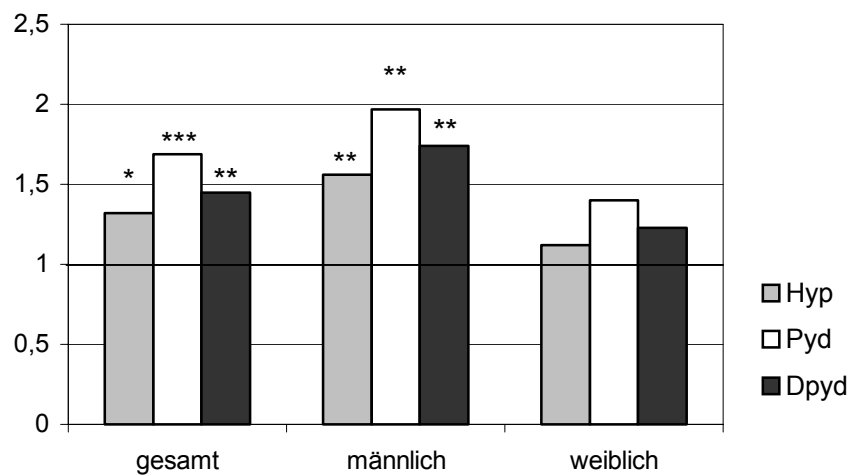


Abbildung 11 Hyp, Pyd und Dpyd bei der aAp als Vielfaches des Mittelwertes bei der iAp  
Signifikanz der MW-Differenzen zw. der iAp und aAp im Mann-Whitney-U-Test \*=p<0,05; \*\*=p<0,01; \*\*\*=p<0,001

Tabelle 14 Mittelwerte der CL im Urin bei der Kontrolle, der aAp und iAp

	Ko	n=50	aAp	n=14	iAp	n=40
	Pyd <sup>1)</sup>	Dpyd	Pyd	Dpyd	Pyd	Dpyd
gesamt	27,0	8,5	58,0	14,1	34,4	9,8
männlich	23,5	7,0	57,2	15,6	29,0	9,0
weiblich	34,4	11,7	58,5	13,3	41,8	10,8

<sup>1)</sup> Pyd und Dpd in nmol/mmol Kreatinin

## N-Telopeptid (NTx)

Für N-Telopeptid (NTx) standen uns nur Messdaten bei einem Teil der Ap-Patienten, nicht jedoch in der Kontrollgruppe zur Verfügung. NTx zeigte bei der aAp im Vergleich zur iAp tendenziell höhere Werte (Tabelle 15, Abbildung 12). In der gleichen Stichprobe fiel die Erhöhung der Pyd- und Dpyd-Ausscheidung im Urin bei der aAp im Vergleich zur iAp (insbesondere bei den Männern) deutlich stärker aus.

Tabelle 15 Mittelwerte von NTx bei der aAp und der iAp; Werte der CL der gleichen Stichprobe

		iAp	aAp	p <sup>2)</sup>
NTx <sup>1)</sup>	gesamt	40,6 ± 21,5 27	50,8 ± 23,9 10	n.s.
	männlich	36,5 ± 13,3 15	47,4 ± 1,6 3	(0,051)
	weiblich	45,7 ± 28,6 12	52,2 ± 29,1 7	n.s.
Pyd <sup>1)</sup>	gesamt	36,2 ± 15,9	64,9 ± 19,7	0,000
	männlich	30,0 ± 9,0	63,3 ± 13,1	0,002
	weiblich	43,9 ± 19,3	65,6 ± 22,9	n.s.
Dpyd <sup>1)</sup>	gesamt	9,2 ± 4,1	15,3 ± 4,6	0,002
	männlich	8,4 ± 3,0	16,1 ± 1,4	0,001
	weiblich	10,2 ± 5,1	14,9 ± 5,6	n.s.

<sup>1)</sup> MW ± SD in nmol/mmol Kreatinin; <sup>2)</sup> Signifikanz der MW-Differenz aAp vs. iAp im Mann-Whitney-U-Test

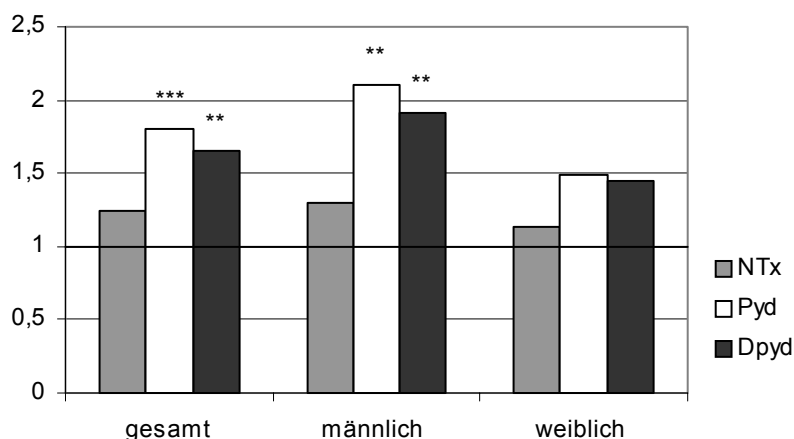


Abbildung 12 NTx, Pyd und Dpyd bei der aAp als Vielfaches des jeweiligen Mittelwertes bei der iAp  
Signifikanz der MW-Differenzen zw. der iAp und aAp im Mann-Whitney-U-Test \* = p < 0,05; \*\* = p < 0,01; \*\*\* = p < 0,001

Die Korrelationen zwischen den Kollagenabbaumarkern Hydroxyprolin und NTx und den CL im Urin sowie deren jeweilige Beziehung zu den anderen Parametern der Krankheitsaktivität gehen aus der Tabelle 16 hervor.

Tabelle 16 Korrelationen zwischen den Kollagenabbaumarkern untereinander und zu Parametern der Krankheitsaktivität bei der aAp

	Hyp	n=54	NTx	n=37	uPyd <sup>1)</sup>	n=61	uDpyd <sup>1)</sup>	n=61
	r <sup>3)</sup>	p	r	p	r	p	r	p
uPyd	0,55	0,000	0,52	0,001	-	-	0,71	0,000
uDpyd	0,54	0,000	0,59	0,000	-	-	-	-
sPyd <sup>2)</sup>	-0,11	n.s.	-0,08	n.s.	0,00	n.s.	-	-
sDpyd <sup>2)</sup>	0,00	n.s.	0,00	n.s.	-	-	0,20	n.s.
Hyp	-	-	0,62	0,000	-	-	-	-
BSG	0,09	n.s.	0,07	n.s.	0,42	0,001	0,12	n.s.
CrP	0,10	n.s.	0,22	n.s.	0,49	0,000	0,28	0,039
PASI	0,15	n.s.	-0,04	n.s.	-0,05	n.s.	0,06	n.s.
Aktivität <sup>4)</sup>	0,28	0,047	0,30	n.s.	0,44	0,000	0,33	0,002

<sup>1)</sup> Pyd bzw. Dpyd im Urin; <sup>2)</sup> Pyd bzw. Dpyd im Serum; <sup>3)</sup> Spearman-Rho-Korrelationskoeffizient;

<sup>4)</sup> Kendall-Tau-b-Korrelationskoeffizient

**Hydroxyprolin** zeigt bei der Ap eine signifikante Korrelation zu Pyd und Dpyd im Urin, nicht jedoch zu den Serum-Crosslinks. Zu den Entzündungsmarkern BSG und CrP und dem PASI bestehen dagegen keine statistisch signifikanten Korrelationen. Lediglich im Verhältnis zum Aktivitätsgrad der Arthritis konnte eine signifikante jedoch schwache Korrelation festgestellt werden. **N-Telopeptid** wies in der Ap-Gesamtgruppe signifikante Korrelationen zu Pyd und Dpyd im Urin sowie zu Hydroxyprolin im Urin auf (Tabelle 16), dagegen ebenfalls keine signifikante Korrelation zu den CL im Serum. Eine Korrelation zu paraklinischen Entzündungsmarkern fand sich lediglich in der männlichen Untergruppe (Tabelle 17). In dieser Stichprobe zeigte NTx eine stärkere Korrelation zum CrP und zur BSG als Dpyd.

Tabelle 17 Korrelationen in der männlichen Ap-Gruppe

n=15	Pyd im Urin		Dpyd im Urin		NTx	
	r <sup>1)</sup>	p	r	p	r	p
CrP	0,71	0,003	0,55	0,032	0,68	0,006
BSG	0,57	0,025	0,44	n.s.	0,53	0,044

<sup>1)</sup> Spearman-Rho-Korrelationskoeffizient

**Zusammenfassend** kann gesagt werden, dass beide im Urin gemessenen Marker, Hydroxyprolin als kollagenspezifische Aminosäure und N-Telopeptid als knochenspezifischer Kollagen-I-Abbaumarker signifikant mit beiden Crosslinks im Urin korrelieren. Eine Beziehung zu den Entzündungsmarkern CrP und BSG wie sie bei den CL – allerdings bei höherer Fallzahl – gefunden wurde, ließ sich nur bei N-Telopeptid in der männlichen Untergruppe nachweisen. Beide Marker weisen geringere Mittelwertunterschiede zwischen der aAp und der iAp als die CL im Urin auf.

### 3.2. Crosslinks bei der Psoriasis ohne Arthritis

Bei der Analyse der Crosslinks im Urin bei den Patienten mit Psoriasis ohne Arthritis waren keine signifikanten Abweichungen von den Werten der gesunden Kontrolle als auch der Gruppe mit inaktiver Ap festzustellen. Im Vergleich zur Gruppe mit aktiven Ap lagen die Werte signifikant niedriger (Tabelle 18).

Tabelle 18 Mittelwerte und Signifikanz der Differenzen zur Psoriasis-Gruppe

	Psoriasis	Kontrolle	p	Ap inaktiv	p	Ap aktiv	p
Pyd	32,3	30,7	n.s.	34,9	n.s.	58,1	0,000
Dpyd	10,1	9,0	n.s.	9,7	n.s.	13,7	0,029
Pyd/Dpyd	3,57	3,85	n.s.	3,90	n.s.	4,54	0,029

Wegen der oben gezeigten Abhängigkeit der CL-Ausscheidung vom Alter wurden anschließend matched pairs aus der Psoriasisgruppe und der Kontrolle gebildet, die sich im Alter und Geschlecht glichen. Bei diesen 20 Paaren waren im Wilcoxon-Test bei Pyd im Urin eine signifikante Erhöhung in der Psoriasisgruppe festzustellen (exakte einseitige Signifikanz von  $p=0,035$ ) und eine mit 0,053 nahe am 5%-Signifikanzniveau liegende Dpyd-Erhöhung. Das Verhältnis Pyd zu Dpyd unterschied sich nicht. Bei der isolierten Betrachtung der männlichen Paare war der Unterschied mit  $p=0,047$  ebenfalls signifikant. Die Abbildung 13 zeigt zur Veranschaulichung die Werte von Pyd im Urin bei den männlichen Paaren.

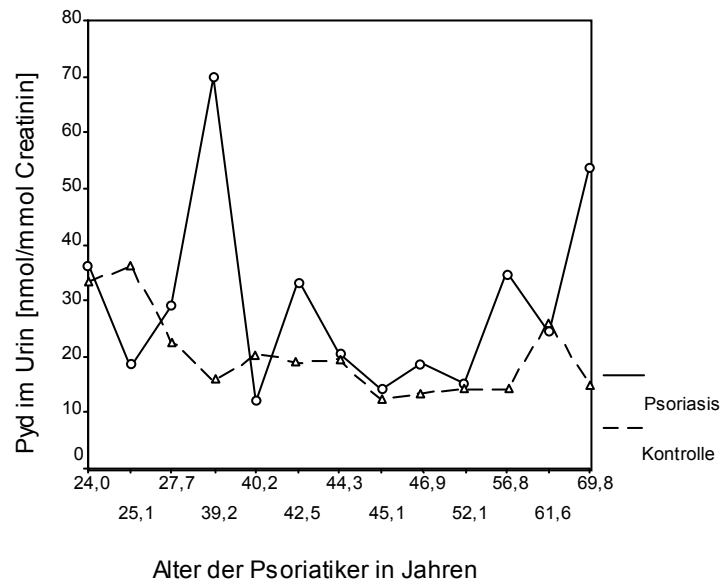


Abbildung 13 Pyd im Urin bei gleichaltrigen Paaren von männlichen Psoriasis-Patienten und Kontrollpersonen

Weiterhin wurde untersucht, ob sich eine Beziehung zwischen der CL-Ausscheidung und der Schwere der Hautmanifestation der Psoriasis feststellen lässt. Im Ergebnis konnte weder in der Psoriasis-Gesamtgruppe, noch bei einem der Geschlechter eine Korrelation zwischen dem PASI und den Crosslinks gefunden werden. Auch unter Berücksichtigung des Alters ergab sich keine Korrelation.<sup>4</sup>

### 3.3. Crosslinks bei Ap, RA und Osteoporose

Im nächsten Schritt wurden die CL-Werte bei der Ap mit denen bei anderen Erkrankungen verglichen. Bei der Osteoporose (OP) ist der Knochenmetabolismus im Sinne eines Überwiegens der Abbauprozesse verändert. Bei der Rheumatoiden Arthritis (RA) kommt es im Rahmen des Entzündungsprozesses im Gelenk zu Knorpeldegradation, knöchernen Erosionen und einer gelenknahen Osteopenie. Häufig wird auch eine systemische Osteopenie im Rahmen der Grunderkrankung bzw. einer Glucocorticoid-Therapie beobachtet.

Die Mittelwerte der CL-Messungen im Urin bei den einzelnen Krankheitskollektiven sowie deren männlichen und weiblichen Untergruppen sind in Tabelle 19 zusammengefasst. Zur Veranschaulichung der Ergebnisse dienen die folgenden Abbildungen 14 bis 16. In ihnen wurden die CL-Mittelwerte jeder Krankheitsgruppe als Vielfaches des entsprechenden Mittelwertes der Kontrollgruppe dargestellt. Das Signifikanzniveau der Mittelwertdifferenzen zwischen den Kollektiven ist den zugeordneten Tabellen 20 bis 22 zu entnehmen.

<sup>4</sup> partielle Korrelation mit dem Alter als Kontrollvariable

Tabelle 19 Crosslinks im Urin bei verschiedenen Krankheitskollektiven; Angabe des Mittelwertes  $\pm$  Standardabweichung und der Fallzahl

		Kontrolle	Psoriasis	Ap gesamt	Ap inaktiv	Ap aktiv	RA	OP
gesamt	Pyd <sup>1)</sup>	30,7 $\pm$ 14,5 79	32,3 $\pm$ 15,6 21	41,4 $\pm$ 18,4 61	34,9 $\pm$ 13,7 44	58,1 $\pm$ 18,9 17	65,7 $\pm$ 45,6 119	60,1 $\pm$ 35, 83
	Dpyd <sup>1)</sup>	9,0 $\pm$ 5,1 78	10,1 $\pm$ 5,7 21	10,8 $\pm$ 4,7 61	9,7 $\pm$ 4,1 44	13,7 $\pm$ 5,1 17	15,0 $\pm$ 11,3 118	16,7 $\pm$ 8,9 83
	Pyd/Dpyd	3,9 $\pm$ 1,5 78	3,6 $\pm$ 1,4 21	4,1 $\pm$ 1,5 61	3,9 $\pm$ 1,5 44	4,5 $\pm$ 1 17	5,2 $\pm$ 2,7 118	3,8 $\pm$ 1,3 83
männlich	Pyd	25,3 $\pm$ 13,5 37	28,9 $\pm$ 16,7 14	34,1 $\pm$ 14,1 29	29,2 $\pm$ 8, 24	57,2 $\pm$ 12,5 5	49,2 $\pm$ 26,0 13	56,1 $\pm$ 40,7 13
	Dpyd	7,3 $\pm$ 3,6 37	7,7 $\pm$ 2,8 14	10,1 $\pm$ 4,1 29	9,0 $\pm$ 3,3 24	15,6 $\pm$ 3,2 5	11,0 $\pm$ 7,3 13	13,5 $\pm$ 8,1 13
	Pyd/Dpyd	3,8 $\pm$ 1,5 37	3,8 $\pm$ 1,4 14	3,5 $\pm$ 1,1 29	3,5 $\pm$ 1,1 24	3,8 $\pm$ 0,9 5	5,2 $\pm$ 2,1 13	4,0 $\pm$ 1,0 13
weiblich	Pyd	35,4 $\pm$ 13,9 42	39,1 $\pm$ 12,2 7	48,0 $\pm$ 19,6 32	41,6 $\pm$ 15,7 20	58,5 $\pm$ 21,5 12	67,7 $\pm$ 47,1 106	60,8 $\pm$ 34,3 70
	Dpyd	10,5 $\pm$ 5,8 41	14,7 $\pm$ 7,2 7	11,5 $\pm$ 5,2 32	10,6 $\pm$ 4,8 20	13,0 $\pm$ 5,6 12	15,5 $\pm$ 11,7 105	17,2 $\pm$ 9,0 70
	Pyd/Dpyd	3,9 $\pm$ 1,5 41	3,1 $\pm$ 1,1 7	4,6 $\pm$ 1,7 32	4,4 $\pm$ 1,7 20	4,9 $\pm$ 1,7 12	5,2 $\pm$ 2,8 105	3,7 $\pm$ 1,4 70

<sup>1)</sup>Pyd und Dpyd in nmol/mmol Kreatinin

Die drei Patientenkollektive Ap, RA und OP zeigen eine im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöhte Ausscheidung von Pyd und Dpyd im Urin. Im Vergleich der beiden Gelenkerkrankungen Ap und RA miteinander fällt die CL-Ausscheidung bei der RA signifikant höher aus (Pyd<sub>Ap</sub> 41,4 vs. Pyd<sub>RA</sub> 65,7 und Dpyd<sub>Ap</sub> 10,8 vs. Dpyd<sub>RA</sub> 15,0). Betrachtet man jedoch die Ap-Gruppe mit hoher Arthritisaktivität (aAp), zeigen sich zur RA nur noch geringe, nicht signifikante Differenzen (Pyd<sub>aAp</sub> 58,1 vs. Pyd<sub>RA</sub> 65,7 und Dpyd<sub>aAp</sub> 13,7 vs. Dpyd<sub>RA</sub> 15,0).

Die Erhöhung des Verhältnisses Pyd/Dpyd als Ausdruck der im Vergleich zu Dpyd stärkeren relativen Pyd-Erhöhung fällt bei der RA deutlicher aus als bei der aAP und ist auch nur bei dieser signifikant.

Hingegen zeigt die OP eine ebenso erhöhte Dpyd- wie Pyd-Ausscheidung. Dies drückt sich auch im Verhältnis Pyd/Dpyd aus, das sich nicht vom Kontrollkollektiv unterscheidet und im Vergleich zur Ap und zur RA signifikant niedriger liegt.



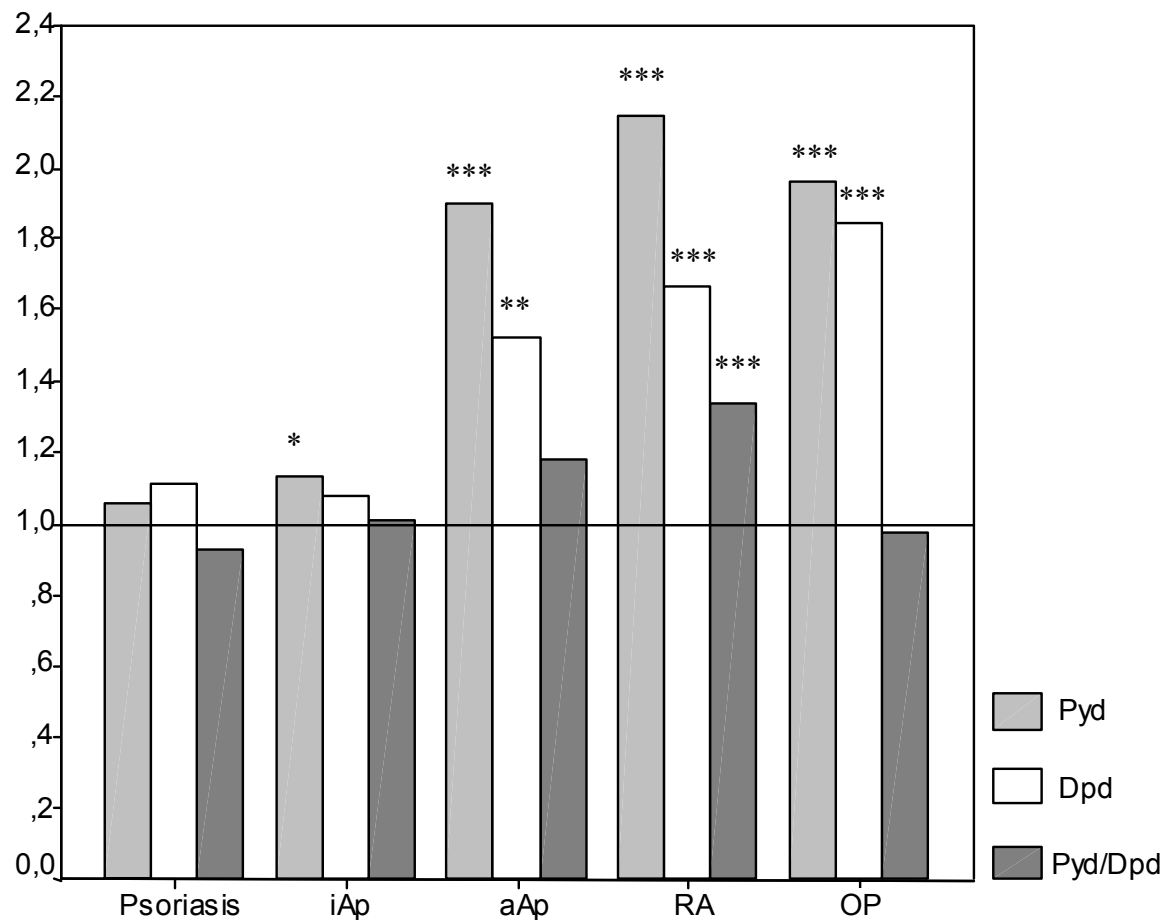


Abbildung 14 CL im Urin als Vielfaches des Mittelwertes der Kontrollgruppe (Gesamtkollektive);  
 \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  Signifikanz der MW-Differenz zur Kontrolle

Tabelle 20 Signifikanz der Mittelwertdifferenzen der Crosslinks im Urin zwischen verschiedenen Krankheitskollektiven im Mann-Whitney-U-Test

		PS	iAp	aAp	RA	OP
Ko	Pyd	n.s.	,042	0,000	0,000	0,000
	Dpyd	n.s.	n.s.	0,001	0,000	0,000
	Pyd/Dpyd	n.s.	n.s.	0,053	0,000	n.s.
PS	Pyd		n.s.	0,000	0,000	0,000
	Dpyd		n.s.	0,029	0,031	0,000
	Pyd/Dpyd		n.s.	0,029	0,003	n.s.
iAp	Pyd			0,000	0,000	0,000
	Dpyd			0,008	0,005	0,000
	Pyd/Dpyd			n.s.	0,001	n.s.
aAp	Pyd				n.s.	n.s.
	Dpyd				n.s.	n.s.
	Pyd/Dpyd				n.s.	0,007
RA	Pyd					n.s.
	Dpyd					0,013
	Pyd/Dpyd					0,000

Bei getrennter Betrachtung beider Geschlechter ergeben sich insbesondere bei der Ap unterschiedliche Muster. In der männlichen Untergruppe der aAp fand sich ein im Verhältnis zur gesunden männlichen Kontrolle auf das 2,1-fache erhöhter Dpyd-Wert (15,6 vs. 7,3), was zur Folge hat, dass das Verhältnis Pyd/Dpyd nicht vom Wert der Kontrollgruppe abweicht (3,8 vs. 3,8). Dagegen liegt dieser Wert bei der RA mit 5,2 auch in der männlichen Untergruppe signifikant über dem Normalwert. Dieser Unterschied zwischen der aAp und der RA fiel allerdings wegen der kleinen Fallzahl von nur 5 männlichen aAp- und 13 RA-Patienten nicht signifikant aus (Abbildung 15 und Tabelle 18 Tabelle 21).

Im Gegensatz dazu findet sich bei den Frauen mit aAp eine wesentlich stärker erhöhte Pyd-Ausscheidung als die von Dpyd, was vom Muster her dem der RA ähnelt.

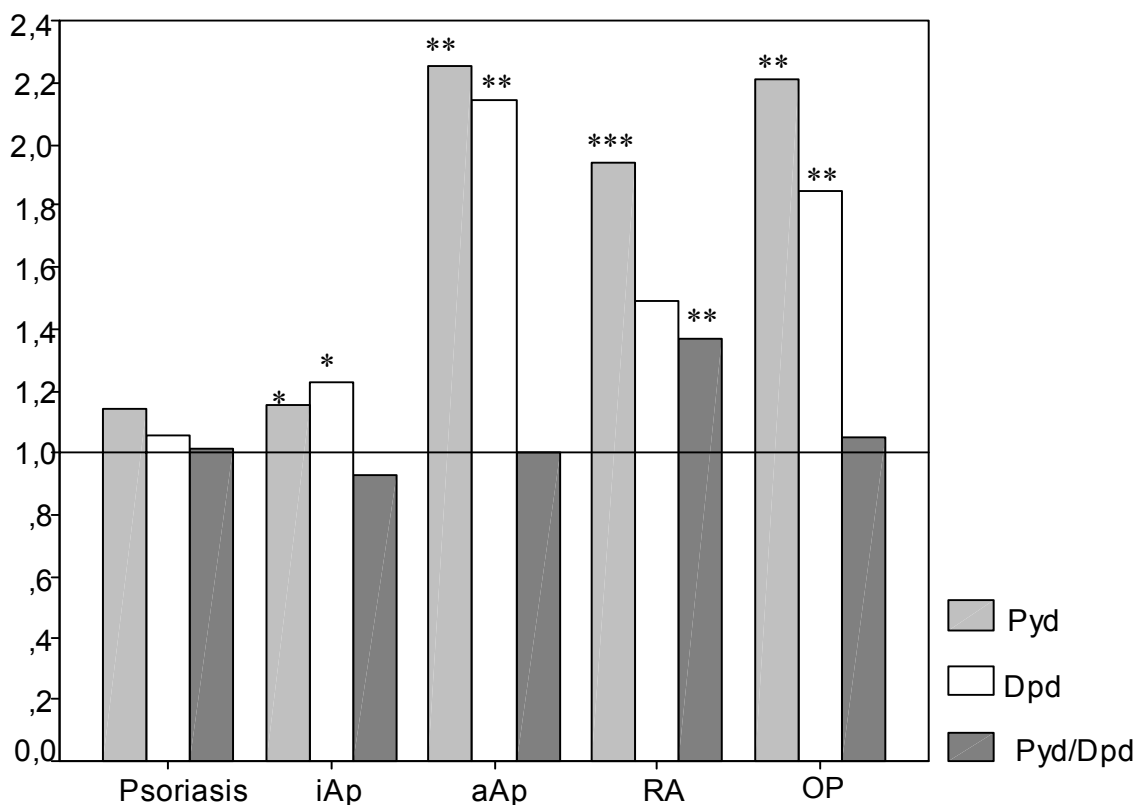


Abbildung 15 CL im Urin als Vielfaches des Mittelwertes der Kontrollgruppe (männlichen Untergruppen); \*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$  Signifikanz der MW-Differenz zur Kontrolle

Tabelle 21 Signifikanz der Mittelwertdifferenzen der Crosslinks im Urin bei den männlichen Untergruppen verschiedener Krankheiten im Mann-Whitney-U-Test

männlich		PS	iAp	aAp	RA	OP
Ko	Pyd	n.s.	0,037	0,001	0,000	0,001
	Dpyd	n.s.	0,042	0,001	n.s.	0,003
	Pyd/Dpyd	n.s.	n.s.	n.s.	0,001	n.s.
PS	Pyd		n.s.	0,010	0,012	0,026
	Dpyd		n.s.	0,002	n.s.	0,026
	Pyd/Dpyd		n.s.	n.s.	(0,052)	n.s.
iAp	Pyd			0,000	0,002	(0,052)
	Dpyd			0,004	n.s.	n.s.
	Pyd/Dpyd			n.s.	0,004	n.s.
aAp	Pyd				n.s.	n.s.
	Dpyd				n.s.	n.s.
	Pyd/Dpyd				n.s.	n.s.
RA	Pyd					n.s.
	Dpyd					n.s.
	Pyd/Dpyd					(0,069)

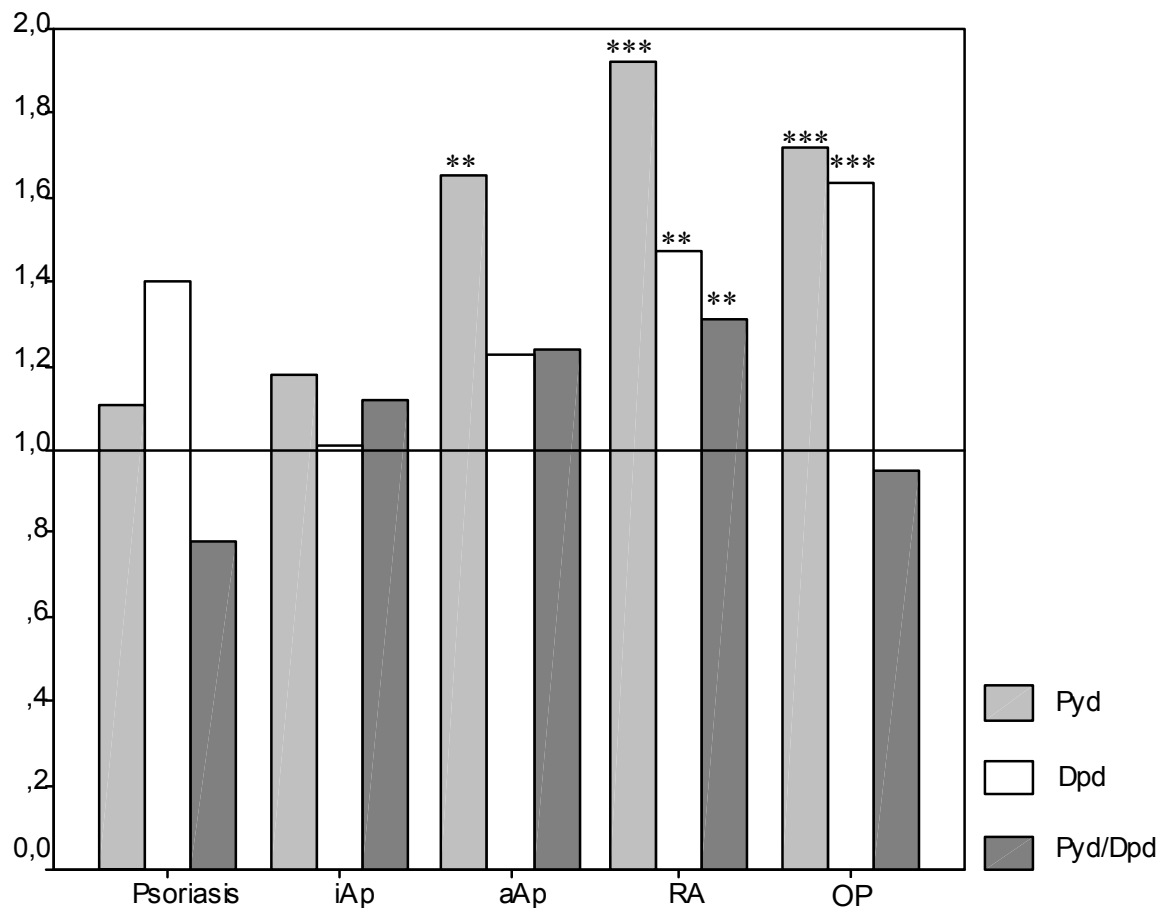


Abbildung 16 CL im Urin als Vielfaches des Mittelwertes der Kontrollgruppe (weibliche Untergruppen); \*  $p<0,05$ ; \*\*  $p<0,01$ ; \*\*\*  $p<0,001$  Signifikanz der MW-Differenz zur Kontrolle

Tabelle 22 Signifikanz der Mittelwertdifferenzen der Crosslinks im Urin bei den weiblichen Untergruppen verschiedener Krankheiten im Mann-Whitney-U-Test (siehe Abbildung 16)

weiblich		PS	iAp	aAp	RA	OP
Ko	Pyd	n.s.	(0,058)	0,001	0,000	0,000
	Dpyd	n.s.	n.s.	n.s.	0,007	0,000
	Pyd/Dpyd	n.s.	n.s.	(0,061)	0,004	n.s.
PS	Pyd		n.s.	(0,052)	0,029	0,033
	Dpyd		n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
	Pyd/Dpyd		0,031	0,018	0,009	n.s.
iAp	Pyd			0,032	0,002	0,004
	Dpyd			n.s.	n.s.	0,001
	Pyd/Dpyd			n.s.	n.s.	0,037
aAp	Pyd				n.s.	n.s.
	Dpyd				n.s.	n.s.
	Pyd/Dpyd				n.s.	0,002
RA	Pyd					n.s.
	Dpyd					0,011
	Pyd/Dpyd					0,000

Weiterhin wurde eine Testung auf Gruppenunterschiede mit 17 matched pairs (nach Alter und Geschlecht) zwischen Patienten aus der aAp-Gruppe und der RA-Gruppe durchgeführt. Bei diesen 17 Paaren wurden bezüglich der Entzündungsparameter (BSG und CrP) und der CL-Ausscheidung keine signifikanten Unterschiede festgestellt. Lediglich das Verhältnis Pyd/Dpyd im Urin lag in der aAp-Gruppe signifikant niedriger als in der RA-Gruppe. Dabei wurde ausgeschlossen, dass es sich hier um einen Selektionseffekt handelte. (Die Mittelwerte der Crosslinks und des Verhältnisses Pyd/Dpyd unterschieden sich im Mann-Whitney-Test nicht signifikant.)

**Zusammenfassend** kann festgestellt werden, dass die Crosslinks bei der aktiven Ap vergleichbar mit den Werten der RA und der high-turnover-OP erhöht sind. Dabei wurden in der Tendenz im RA-Kollektiv die höchsten Pyd-Werte und im OP-Kollektiv die höchsten Dpyd-Werte beobachtet.

Beim Verhältnis Pyd zu Dpyd ergibt sich ein uneinheitliches Bild. Während bei der Osteoporose der Quotient unabhängig vom Geschlecht nicht wesentlich vom Normalwert abweicht, zeigt der Wert bei der RA bei beiden Geschlechtern eine signifikante Erhöhung als Ausdruck des stärkeren Pyd-Anstieges. Bei der aAp liegt der Quotient bei den Frauen zwischen den Werten der RA und der OP, wobei sich der Unterschied nur zur OP statistisch sichern ließ. Bei den Männern liegt der Quotient dagegen in Höhe der OP und deutlich niedriger als bei der RA.

Auch wenn die Mittelwertdifferenz des Quotienten Pyd/Dpyd zwischen der aAp und der RA nicht signifikant ausfällt, zeigen sich bei der Bildung von matched pairs zwischen der aAp und der RA bei der aAp signifikant niedrigere Werte.

## IV. Diskussion

In den folgenden Abschnitten werden die Ergebnisse entsprechend der eingangs dargestellten Fragestellungen (siehe Kapitel I.4) diskutiert.

### **4.1. *CL als biochemischer Marker bei der Osteoarthropathia psoriatica***

Zunächst werden die Ergebnisse unter dem Gesichtspunkt diskutiert, ob sich die CL als biochemische Marker kongruent zu den szintigrafischen, histomorphometrischen und pathomorphologischen Befunden verhalten, auf die sich der Krankheitsbegriff der Osteoarthropathia psoriatica stützt. Dabei werden die Osteopathie und die Arthropathie in der Diskussion getrennt betrachtet:

Mehrere Befunde sprechen für das Vorliegen einer eigenständigen primären Osteopathie im Rahmen der Psoriasis-Krankheit. Danach kommt es unabhängig von einer Manifestation einer Ap zu einem vermehrten Knochenumsatz, der sich auch in einer erhöhten CL-Ausscheidung bei der Psoriasis ohne Arthritis widerspiegeln könnte (Kapitel 4.1.1). In diesem Rahmen interessierte ein möglicher Zusammenhang zwischen der Schwere der Hautmanifestation und der Intensität der Knochen- und Gelenkmanifestation der Psoriasis-Krankheit (Kapitel 4.1.2).

Auf der anderen Seite stellt die Arthritis im Rahmen der OAP durch Synovialitis und Knorpeldegradation sowie möglicherweise sekundärem Knochenabbau /-umbau eine zusätzliche Quelle einer erhöhten CL-Ausscheidung dar. Daher kann ein Zusammenhang zwischen der CL-Ausscheidung und der Arthritisaktivität angenommen werden (Kapitel 4.1.3).

#### **4.1.1. Osteopathie**

Bei der Knochenmanifestation im Rahmen der Psoriasis-Krankheit handelt es sich möglicherweise um unterschiedliche Prozesse:

1. Eine lokale vor allem gelenknah auftretende Osteopathie.
2. Eine diffuse allgemeine Osteopathie mit einem high-turnover-remodeling.
3. Eine durch die Synovialitis induzierte Osteopathie, auf die im Kapitel 4.1.3 eingegangen wird.

## Lokale Osteopathie

HOLZMANN stellte bei szintigrafischen Untersuchungen seiner Psoriasis-Patienten fest, daß bis zu über 90% pathologische Nuklidanreicherungen aufwiesen. Diese traten meist lokalisiert im gelenknahen Knochen auf, jedoch gelegentlich auch gelenkfern, z.B. an der Schädelkalotte, den Rippen oder an langen Röhrenknochen. Pathologische Nuklidanreicherungen fanden sich in der Knochenszintigrafie an doppelt so vielen Gelenken als bei der Gelenkszintigrafie [52]. Dabei machte die Gruppe mit positiven szintigrafischen Befunden und gleichzeitig bestehenden röntgenologischen Zeichen einer Gelenkveränderung nur 17 % der Gesamtgruppe aus [51]. Später wurden die Knochenherde nach dem Grad der Nuklidanreicherung in Schweregrade von 1 bis 3 eingeteilt. Dabei wurden bei rund 20% der untersuchten großen Gelenke und 50% der kleinen Gelenke leichte und mäßige Mehrspeicherungen (Grad 1 und 2) festgestellt, die als „Frühformen“ bezeichnet wurden. Dagegen wiesen nur jeweils 3% der großen und der kleinen Gelenke eine massive Mehrspeicherung, sog. „hot spots“ auf [54]. Die Frühformen erwiesen sich als klinisch stumm und reversibel, wenn sie nicht im Verlauf in hot spots übergingen. Dagegen imponierten die hot spots klinisch häufig als Arthritis, zeigten meist erhöhte Entzündungsmarker (CrP, BSG, ASL) und erwiesen sich im Verlauf als nicht reversibel. Dabei würden nicht alle hot spots in eine klinisch manifeste Arthritis münden, umgekehrt jedoch alle Arthritiden sich als hot spot darstellen. Hot spots würden tendenziell mit der Erkrankungsdauer der Dermatoze zunehmen und bei chronisch stationärer aktiver Psoriasis und Psoriasis pustulosis generalisata häufiger auftreten.

Weiterhin wurde von FABBENDER pathomorphologisch ein eigenständiger Knochenprozeß bei der Ap beschrieben, der das Korrelat der szintigrafischen Befunde bilden könnte. Hierbei fanden sich in der Nachbarschaft der von der Ap erfaßten Gelenke Zonen, in denen es zu einem massiven Umbau der Knochensubstanz gekommen war, wie man ihn in dieser Art bei anderen Erkrankungen nicht kennt [28]. Hauptmerkmal ist die Freilegung des Kollagenfasergerüsts des Lamellenknochens durch den Verlust der Proteoglykan-Zwischensubstanz. Dieser Prozeß verläuft zonal begrenzt und unsystematisch, so daß betroffene und nicht betroffene Knochenlamellen regellos nebeneinander liegen. In der Folge kommt es reaktiv zu Osteoblastenanlagerung an die Kollagenfasern, Osteoidneubildung und die Formation eines sich an den verbliebenen Kollagenfaserbündeln orientierenden Geflechtknochens. Der selektive Verlust der Proteoglykane spricht weder für eine entzündliche Genese noch eine Osteoklastenaktivität, da diese in der Regel eine Zerstörung der Kollagenfasern mit sich bringen. Es wurden histologisch auch keine entsprechenden

Zelltypen beobachtet. Ursächlich wurde eine enzymatische Störung angenommen, die ein Bindeglied zur Hautmanifestation der Psoriasis darstellen könnte.

### Diffuse Osteopathie

Neben dem häufigen Auftreten einer lokalisierten Osteopathie beschrieb HOLZMANN mit Hilfe der Skelettszintigrafie auch eine diffuse Osteopathie im Bereich der Wirbelsäule und anderer Skelettregionen, die sich durch eine flächenhafte Nuklidanreicherung auszeichnete [52]. Dieser Befund konnte von HEIN durch histomorphometrische Untersuchungen am spongiösen Knochen der Beckenschaufel bei Psoriatikern untersetzt werden [44]. In dieser Studie wurde bei Psoriatikern ohne Arthritis (PS) als auch bei Ap-Patienten ein deutlich gesteigerter Knochenstoffwechsel gefunden. Durch das Überwiegen der Knochenformation gegenüber der Knochenresorption wurde in der Summe sogar eine leichte Knochensubstanzzunahme festgestellt. Dabei war die Steigerung auf Seiten der Knochenformation bei der PS sogar noch ausgeprägter als bei der Ap, was mit einer Hemmung der Knochenformation durch die antiinflammatorische Therapie bei der Ap begründet wurde. Dieser Befund spricht dafür, daß die diffuse Osteopathie bei der Psoriasis-Krankheit unabhängig von der Manifestation einer Ap auftritt.

In Anbetracht der sehr häufigen lokalen und der offenbar zusätzlich generell anzutreffenden diffusen Osteopathie bei der Psoriasis wäre zu erwarten, daß bei der PS und der Ap unabhängig vom Vorliegen (und dem Grad) einer Arthritis eine erhöhte CL-Ausscheidung als Ausdruck der gesteigerten Knochenresorption zu finden ist.

Unsere Ergebnisse lassen sich mit den o.g. Befunden nur bedingt in Übereinstimmung bringen. Gruppenstatistisch fanden wir bei der PS keine erhöhte CL-Ausscheidung im Vergleich zur gesunden Kontrolle. Bei der Ap bestand zwar eine signifikante Erhöhung der Spiegel beider CL. Diese ließ sich bei der iAp aber nur noch für Pyd statistisch sichern.

Andererseits spricht für die o.g. Hypothese, daß in der männlichen Untergruppe der iAp eine signifikante Erhöhung der Pyd-Ausscheidung gegenüber der Kontrolle um 15% und der von Dpyd um 23% bestand. Zudem zeigte sich nach Bildung von matched pairs von PS-Patienten mit gesunden Probanden unter Berücksichtigung von Alter und Geschlecht bei den PS-Patienten eine Tendenz zu einer höheren CL-Ausscheidung (einseitige Signifikanz bei Pyd 0,035 und Dpyd 0,053).



In der Literatur finden sich kaum vergleichbare Studien zu Kollagendegradationsmarkern bei der PS bzw. Ap. In einer kürzlich von AL-AWADHI publizierten Studie wurde bei Ap-Patienten mit supprimierter Arthritis kein Abfall von Dpyd und NTx auf das Niveau der Kontrollgruppe festgestellt, was auf eine andauernde Knochenaffektion hindeuten würde [2]

Damit bestehen zwar Hinweise für eine generell erhöhte CL-Ausscheidung bei der PS, die jedoch weniger deutlich ausfällt als erwartet. Setzt man voraus, daß unser PS-Kollektiv mit denen in den genannten Studien vergleichbar ist, könnten folgende Gründe dafür verantwortlich sein:

1. Der in der Skelettszintigrafie verwandte Radiotracer Technetium<sup>99m</sup>-Hydroxymethyldiphosphat bindet v.a. an Kollagen mit wenigen Quervernetzungen. Anreicherungen sind also Ausdruck einer gesteigerten Kollagensynthese [56]. Damit müssen die pathologischen Nuklidanreicherungen nicht automatisch auch Ausdruck einer vermehrten Knochenresorption sein, wenn dies auch zu vermuten wäre. In diesem Falle würden die szintigrafischen Herde nicht mit einer vermehrten CL-Ausscheidung einhergehen.
2. Ein Hauptmerkmal des von FAßBENDER beschriebenen Knochenprozesses bei Ap-Patienten ist die initiale Demaskierung der Kollagenfaserbündel durch den Verlust der Proteoglykanzwischen substanz [28]. Wenn dieser Prozeß generell eine Rolle bei der lokalen Osteopathie bei der PS spielen würde, hätte die Verschönerung der Kollagenfasern im Umbauprozess zur Folge, daß die CL als Kollagen-Abbaumarker diese Phase der Osteopathie nicht abbildeten.
3. FAßBENDER beschreibt des weiteren Kollagenfaserabbrüche und eine Geflechtknochenneubildung mit nachfolgendem lamellären Umbau. Diese beiden Prozesse müssen im Gegensatz zur initialen Kollagendemaskierung auch mit einer Kollagendegradation einhergehen. Die Vermutung liegt nahe, daß es zu diesen Prozessen erst bei hoher Intensität des Umbaus kommt, zumal diese Befunde von Biopaten stammen, die im Zusammenhang mit einer endoprothetischen Versorgung bei schweren Gelenkschäden gewonnen wurden. Denkbar wäre demnach durchaus, daß es bei den szintigrafischen Graden 1 und 2 v. a. bei den Prozessen der Kollagendemaskierung und der Knochennachbildung nach Osteoblastenbesatz bleibt.
4. Wenn nur der szintigrafische Grad 3 („hot spots“) mit einer deutlich erhöhten CL-Ausscheidung verbunden wäre, nicht aber die Grade 1 und 2, „hot spots“ aber v.a. bei der

Ap nicht aber bei der PS gefunden werden [54], ist die höhere CL-Ausscheidung bei der iAp im Vergleich zur PS erwartungsgemäß.

5. Weiterhin ist es möglich, daß das histologisch / histomorphometrisch gefundene high-turnover-remodeling sich weniger stark in der Gesamt-CL-Ausscheidung widerspiegelt als erwartet. Jedoch handelt es sich nicht um parallel erhobene Befunde, in denen eine unmittelbare osteoklastäre Alteration mit der CL-Ausscheidung hätte korreliert werden können. Bei entsprechenden Untersuchungen z.B. bei der Osteoporose wurden allerdings nur schwache bzw. keine Korrelationen gefunden<sup>5</sup>.

#### 4.1.2. CL und Hautmanifestation

Im Folgenden wird diskutiert, ob zwischen der CL-Ausscheidung und der Hautmanifestation ein Zusammenhang besteht. In der Ätiopathogenese von psoriatischer Hautmanifestation einerseits und Knochen- und Gelenkmanifestation andererseits werden Gemeinsamkeiten im Pathomechanismus (Proliferation und Entzündung), zugrundeliegender pathogenetischer Prinzipien (latenter Vit.D-Mangel [43], immunologische Auffälligkeiten [67], Kollagenstoffwechselstörung [68] u.a.) und identische auslösende Faktoren (Traumen, bakterielle Streuherde, „inneres und äußeres Köbnerphänomen“ [55]) diskutiert. Auch deutet das gleichzeitige Ansprechen beider Manifestationen auf bestimmte Medikamente (z.B. Methotrexat) auf eine gemeinsame pathogenetische Wegstrecke hin. Zwar besteht kein direkter Zusammenhang zwischen der Schwere der Psoriasis und der Ap. (Das Spektrum der Psoriasis-Krankheit reicht von Fällen mit ausgeprägter Ap und nur geringer Hautmanifestation bis zu schwerer Psoriasis ohne eine manifeste Ap.) Dies schließt jedoch eine Beziehung zwischen der (klinisch stummen) Osteopathie und der Hautmanifestation nicht aus.<sup>6</sup> So wurden Verläufe beobachtet, bei denen einer Remission der Hautläsionen auch eine szintigrafische Befundbesserung folgte [51].

---

<sup>5</sup> In vitro konnte eine hohe Korrelation zwischen Pyd und der lakunären Resorptionsfläche ermittelt werden [76], dagegen wurde bei der Osteoporose von Delmas nur eine schwache Korrelation zwischen Osteoklastenoberfläche und CL-Ausscheidung festgestellt [23]. Eidner fand bei Osteoporose-Patienten sogar keine Korrelation zwischen der Dpyd-Ausscheidung und histomorphometrischen Parametern in Beckenkammbiopsaten. Es könnte sein, daß der Knochen-Turnover im Beckenkamm den des Gesamtskeletts ungenügend widerspiegelt [27].

<sup>6</sup> Ca. 90% der Psoriatischer weisen eine szintigrafisch nachweisbare Osteoarthropathie auf, auch wenn sich nur bei ca. 7% der Psoriatischer eine Ap manifestiert. Wenn zumindest teilweise die genetische Disposition dafür verantwortlich sein sollte [52][81], ob eine OAP zu einer klinisch manifesten Ap führt oder nicht, könnte bei vielen Psoriatikern ohne Arthritis eine parallele Dynamik von der Haut- und („stummer“) Knochenmanifestation klinisch verdeckt bleiben.

In unserer Untersuchung fand sich in keiner der untersuchten Gruppen (Ap, deren Untergruppen iAp und aAp sowie PS) eine Korrelationen zwischen der CL-Ausscheidung und dem PASI, d.h. dem Ausmaß der psoriatischen Hautläsionen. Auch das Verhältnis Pyd/Dpyd zeigte keine Korrelation zum PASI. Schließlich bestanden zwischen den Entzündungsparametern BSG und CrP und dem PASI erwartungsgemäß keine Korrelationen.

Zusammenfassend konnten wir damit keine quantitative Beziehung zwischen der Hautmanifestation und der CL-Ausscheidung, d.h. der Knochen- und Knorpeldegradationsprozesse feststellen. Dies kann einerseits so gedeutet werden, daß die beiden Manifestationen in ihrer Dynamik unabhängig voneinander sind. Andererseits könnten die CL als Abbaumarker ungeeignet sein, den oben beschriebenen Knochenprozeß mit der Verschonung der Kollagenfasern beim Knochenumbau abzubilden. Nicht ausgeschlossen sind damit individuell oder je nach Verlaufstyp der Ap unterschiedlich starke Assoziationen beider Prozesse.

#### 4.1.3. CL und Arthritisaktivität

Die Ap zeichnet sich gegenüber anderen Arthritiden, insbesondere der RA außer im spezifischen Verteilungsmuster durch eine besondere Tendenz zu Mutilationen, zur Ankylosierung und dem Nebeneinander von osteolytischen und osteoproliferativen Prozessen aus.

Die Arthritis psoriatica ist durch verschiedene Prozesse/ Phänomene gekennzeichnet. Zu nennen sind

1. die Synovialitis, die der RA ähnlich ist und für einen Großteil der akuten Symptomatik der Ap verantwortlich ist,
2. die Knorpeldestruktion, mit der Folge der Gelenkzerstörung, die eine dauerhafte Behinderung bewirken kann,
3. der primäre Prozeß im gelenknahen Knochen, der als Auslöser der Arthritis diskutiert wird und
4. die Arthritis-induzierten, also sekundären Veränderungen am Knochen.

Die Synovialhistologie bei der Ap ist derjenigen bei der RA pathomorphologisch sehr ähnlich. Die bei der RA häufig auftretenden rheumatoiden Granulome fehlen allerdings bei der Ap [28][118]. Charakteristisch für die Ap sind eine Synoviozytenvermehrung, eine

mäßige Fibrose und Gefäßhyperplasie. Unterschiede zwischen den Arthritiden bestehen jedoch nur in quantitativer Hinsicht. Insgesamt weist die Synovia bei der Ap kein spezifisches histologisches (pathognomonisches) Befundmuster auf [118].

Bei der Ap kommt es wie bei der RA zu einer Destruktion des Gelenkknorpels, wobei sich deren Bild bei der Ap deutlich von dem bei der RA unterscheidet. Im Gegensatz zur RA zeigen bei der Ap die Zonen mit Knorpel-ersetzendem Narbenpannus keinen Anschluß an „marginale synoviogene Einbruchstraßen [, sondern] stehen vielmehr über breite Durchbrüche des subchondralen Knochen mit dem Markraum in Verbindung“ [31]. Dieses Pannusnarbengewebe ist nicht synoviogenen sondern myelogenen Ursprungs.

Diese Befunde führten FAßBENDER zu der Vermutung, daß die Knorpeldegradation bei der Ap nicht von der Synovialitis ausgehe, sondern eine Folge des Übergreifens des oben beschriebenen primären psoriatischen Knochenprozesses auf den Gelenkknorpel ist [31]. Dafür spricht auch, daß in der Knochenszintigrafie im Vergleich zur Gelenkszintigrafie doppelt so häufig pathologische gelenknahe Nuklidanreicherungen gefunden werden [51]. SCHILLING formulierte als weitere Hypothese zur Auslösung der Ap, daß der paraartikuläre Knochenprozeß über die „Vermittlung“ einer ossifizierenden Kapsulitis – ähnlich einer Enthesitis – zur Synovialitis führe [102]. Zumindest im weiteren Verlauf spielen aber auch immunologische Phänomene bei der Synovialitis eine wesentliche Rolle.

Im Rahmen der Ap kommt es zur Knorpelzerstörung sowie zu Knochenab- bzw. -umbauprozessen (Erosionen, Apposition, Mutilationen, Ankylosierung). Bei der RA konnte eine enge Beziehung der CL-Ausscheidung zur Arthritisaktivität festgestellt werden [9]. Unklar ist, inwieweit diese Prozesse auch bei der Ap direkte Folge der entzündlichen Aktivität sind, bzw. in zeitlichem Zusammenhang mit dieser stehen.

Diese Studie sollte Aufschluß darüber geben, ob die Ausscheidung der CL im Urin auch bei der Ap mit der Arthritisaktivität korreliert. Außerdem war zu klären, ob aus dem Verhältnis der beiden CL zueinander Rückschlüsse über das Verhältnis von Knorpel- zu Knochendegradation gezogen werden können.

Die Ap-Gruppe wies im Vergleich zur gesunden Kontrolle (Ko) eine signifikant erhöhte Ausscheidung beider CL im Urin auf. Die Untergruppe mit hoher Arthritisaktivität (aAp) zeigte gegenüber der Gruppe mit inaktiver bzw. gering aktiver Arthritis (iAp) eine signifikant höhere Ausscheidung beider CL ( Pyd um 67%, Dpyd um 41%).

Ebenso wie die Gruppenunterschiede zwischen der aAp und der iAp sprechen auch die signifikanten Korrelationen von Pyd zu den Entzündungsparametern CrP und BSG für den positiven Zusammenhang zwischen der CL-Ausscheidung und der Aktivität der Gelenkentzündungen. Dpyd korrelierte dagegen nur mit dem CrP - allerdings schwächer als Pyd, nicht aber mit der BSG.

Daraus lassen sich drei wesentliche Aussagen ableiten:

1. Die Erhöhung von Dpyd und dessen Korrelation mit dem CrP weisen auf einen Zusammenhang zwischen der Knochenresorption und der entzündlichen Aktivität der Synovialitis hin.
2. Der stärkere Pyd-Anstieg und dessen stärkere Korrelation mit den Entzündungsparametern weisen auf den Zusammenhang zwischen der hinzukommenden Knorpeldegradation und der Synovialitis hin.
3. Das CrP zeigt eine stärkere Korrelation zu den Markern der Kollagen degradation als die BSG.

Die eigenen Ergebnisse zeigen somit in Übereinstimmung mit Studien zur RA und Arthrose ein Ansteigen der CL-Ausscheidung mit der Arthritisaktivität [9][125][116][42][70], wobei Knochen und Knorpel degradation zu den erhöhten CL-Werten beitragen. Da Dpyd im Knorpelgewebe und in der Synovialis nur in vernachlässigbar geringen Mengen vorkommt [119], stellt der Knochen die Hauptquelle für die Dpyd-Ausscheidung dar. Durch die zusätzliche Pyd-Freisetzung aus dem Knorpel und der Synovialis kommt es zu einem Anstieg im Verhältnis Pyd/Dpyd. Von mehreren Autoren wurde die Möglichkeit gesehen, über das Verhältnis Pyd/Dpyd die Intensität von Knorpelabbauprozessen einschätzen zu können [109][9][125]. So zeigte sich ein Anstieg des Verhältnisses Pyd/Dpyd bei der RA im Vergleich zur gesunden Kontrolle [9] und bei der aktiven RA gegenüber der inaktiven RA [109]. TAKAHASHI fand in der Synovialis signifikante Mengen an Pyd und stellte heraus, daß eine vermehrte Pyd-Ausscheidung somit theoretisch auch allein auf die Synovialitis zurückzuführen sein könnte [119]. Am wahrscheinlichsten handelt es sich um die Summe aus den beiden Pyd-Quellen - Synovialis und Knorpel. Dabei könnte die Gewichtung des Pyd-Aufkommens im Verlauf eines Arthritisschubes von der anfänglichen Synovialitis hin zur Knorpeldestruktion ändern.

Für den Zusammenhang zwischen Synovialitis und Knochenresorption sind mehrere Erklärungen denkbar. Einerseits könnte dies im Sinne eines Arthritis-induzierten Knochenverlustes interpretiert werden, wie er für die RA in Form der Osteoklastengnese bzw. -aktivierung durch Freisetzung von Cytokinen insbesondere aus Synovialzellen und T-Lymphozyten (IL 6, IL 1,  $\text{TNF}\alpha$ , RANKL/ODF) [121][40][99][11][66] beschrieben wurde. Andererseits könnten die Befunde auch darauf hindeuten, daß es bei einer hohen Intensität des psoriatischen gelenknahen Knochenprozesses mit dem Übergreifen auf das Gelenk zur Auslösung der Synovialitis kommt und/oder deren Intensität von der Stärke dieses Knochenprozesses abhängt. Allein aufgrund des Verhältnisses der Anstiege der CL kann die Frage, welche der genannten Möglichkeiten zutrifft, oder ob beide Prozesse (mit mehr oder weniger Gewicht des einzelnen) wirken, nicht beantwortet werden.

Die folgenden Überlegungen im Zusammenhang mit den Entzündungsmarkern CrP und BSG, sowie ein Vergleich mit der RA können möglicherweise erste Anhaltspunkte bieten.

Studien, in denen Subtypen der Ap auf Unterschiede in der Stärke des Zusammenhanges zwischen klinischen Aktivitätszeichen und dem Ansprechen der Entzündungsmarker hin untersucht wurden, zeigen einerseits eine unterschiedliche Neigung zur Gelenkdestruktion unter den Subtypen und andererseits ein unterschiedliches Ansprechen der Entzündungsmarker auf die klinischen Aktivitätszeichen der Arthritis [21]. Der gefundene Zusammenhang könnte in Übereinstimmung mit HELLIWELL [50] und (ähnlich) auch mit STADELMANN [117] so interpretiert werden, daß Ap-Fälle mit erhöhten CrP-Spiegeln eine starke Gelenkdestruktion aufweisen.

Es scheint also möglich, daß es sich auch in unserer Studie um unterschiedliche Verlaufstypen der Ap handelt, die mit unterschiedlich starker Gelenkdestruktion (und Knochenumbau) einhergehen und diese auch einen unterschiedlich starken Anstieg des CrP aufweisen.

Dies schließt eine bessere Korrelation der BSG mit der klinischen Symptomatik (Schmerz, Zahl der betroffenen Gelenke, Schwellung etc.) nicht aus, zumal Destruktion und Schmerz nicht in unmittelbarem Zusammenhang stehen. So sah HELLIWELL [50] insgesamt bei der BSG gegenüber dem CrP eine bessere Korrelation zur klinischen Symptomatik bei der Ap. DAUNT [21] konnte sogar nur bei der BSG eine Korrelation mit der klinischen Symptomatik finden, wenngleich die BSG mit dem CrP korrelierte.

#### 4.1.4. CL bei der Ap und der RA im Vergleich

Die Pathogenese der Knorpelzerstörung bei der RA wird kontrovers diskutiert. Einige Autoren wie MOHR [82] oder PILLIGER [91] messen den neutrophilen Granulozyten eine große Bedeutung bei der Knorpeldestruktion bzw. -degradation bei. FAßBENDER zufolge ist diese bei der RA jedoch nicht direkt auf die Entzündung zurückzuführen, sondern wird durch synoviale „tumorähnliche“ Zellverbände verursacht, die im Verlauf eines exsudativen Schubes entstehen, invasiv und destruierend in die Gelenkhöhle wachsen und eine begrenzte Lebensdauer haben. Im Anschluß würden diese Zellverbände zu Pannusnarbengewebe ausreifen [29][32]. In der Forschung der letzten Jahre spielten u. a. die Mechanismen der Transformation von synovialen Fibroblasten durch Proto-Oncogene eine große Rolle [20][85].

Im Gegensatz dazu wird nach Faßbender bei der Ap die Synovialitis durch das Übergreifen des psoriatischen Knochenprozesses auf das Gelenk induziert. Es wird vermutet, daß hierbei Abbauprodukte des Knorpels und der Knochensubstanz, eine Gelenkkapselossifikation im Zusammenspiel mit bakteriellen Infektionen oder mechanischen Traumen auslösende Reize darstellen können.

In unserer Untersuchung zeigt sich zumindest bei der aAP eine mit der RA vergleichbare Erhöhung der CL-Spiegel zur Kontrolle (Abbildung 14), jedoch resultiert bei der RA ein höheres Verhältnis Pyd/Dpyd als bei der Ap. Dies kann als Ausdruck der stärkeren Kollagen-II-Degradation (Knorpeldestruktion) bei der RA gewertet, jedoch auch im Sinne einer intensiveren Synovialitis bei der RA gedeutet werden. BLACK [9] und SPECTOR [116] fanden bei der RA ebenfalls ein gegenüber der Kontrolle deutlich erhöhtes Verhältnis Pyd/Dpyd und werteten dies als Ausdruck der Knorpeldestruktion.

Deutlicher noch wird der Unterschied zur RA bei getrennter Betrachtung beider Geschlechter. Die männlichen RA-Patienten zeigen wie die Gesamtgruppe ein signifikant erhöhtes Verhältnis Pyd/Dpyd (Abbildung 15). Bei der männlichen aAp-Gruppe dagegen bleibt das Verhältnis Pyd/Dpyd bei auf dem Niveau der Kontrollgruppe, was auf die fast gleich starke relative Erhöhung von Pyd und Dpyd zurückzuführen ist. Damit ist das Reaktionsmuster bei den männlichen Ap-Patienten eher mit dem bei der Osteoporose (OP) zu vergleichen, bei der das im Vergleich zur Kontrolle unveränderte Verhältnis Pyd/Dpyd der ausschließlichen Kollagen-I-Degradation des Knochens entspricht. Es liegt der Schluß nahe, daß zumindest in der männlichen Ap-Gruppe die erhöhten CL-Spiegel im Gegensatz zur RA hauptsächlich eine Folge der Kollagen-I-Degradation im Knochen sind und zum weitaus geringeren Teil

Knorpeldestruktion und Synovialitis widerspiegeln dürften, wenngleich bei diesen Patienten eine aktive Arthritis bestand. Auch wenn dieser Befund in einem kleinen Patientenkollektiv erhoben wurde, würde dies die Auffassung von der Ap als Folge eines aktiven osteopathischen Grundprozesses untersetzen.

Im Gegensatz zu den Männern weist das Muster bei den Ap-Frauen mit dem erhöhten Pyd/Dpyd-Verhältnis allerdings eher Ähnlichkeit mit den RA-Frauen auf (Abbildung 16). Hier ist aufgrund des selektiven Pyd-Anstiegs eine im Vordergrund stehende Kollagen-II-Degradation als Ausdruck von Knorpeldestruktion und Synovialitis anzunehmen.

Überraschenderweise korrelierten die Entzündungsmarker bei den Männern gut mit den hauptsächlich vom Knochen stammenden CL, was auf den engen Zusammenhang zwischen Intensität des Knochenprozesses und der Arthritis hinweisen könnte. Bei den Frauen mit der zu vermutenden Betonung der Kollagen-II-Degradation, also der Knorpeldestruktion, besteht dagegen keine Korrelation zu den Entzündungsmarkern.

Inwieweit für die differenten Befunde bei Frauen und Männern Unterschiede im Krankheitsprozeß oder in der Elimination der CL bzw. Überlagerungen mit der postmenopausalen OP oder dem Menstruationszyklus verantwortlich sein könnten, wird im Kapitel 4.2.1 diskutiert.

Bei der RA erklärt sich die in manchen Studien gefundene Abhängigkeit des Dpyd von der entzündlichen Aktivität [70][1] mit direkter intrakapsulärer Knochenschädigung sowie der gelenknahen und systemischen Knochenabbausteigerung [42]. Im Ergebnis wird bei der RA eine Knochenmasseminderung gefunden [97]. Dagegen fiel diese bei der Ap nicht signifikant aus. NOLLA [86] fand ebenfalls bei der Ap keinen Knochendichteunterschied zur gesunden Kontrolle. AL-AWADHI sah im Gegensatz zu Befunden bei der RA [1] bei der Ap (anders als bei den eigenen Ergebnissen) keine Erhöhung der Knochenabbaumarker Dpyd und NTx [2]. Diese Befunde sprechen dafür, daß es bei der RA zu einem Arthritis-abhängigen Knochenverlust kommt, während bei der Ap trotz erhöhtem Knochenumsatz kein signifikanter Knochenverlust resultiert, und der erhöhte Knochenumsatz weniger direkt von der Arthritisaktivität abhängt als bei der RA. Hierfür würden auch die Histomorphometrie-Daten sprechen, die bei Psoriasis mit und ohne Arthritis im Bereich des Knochenabbaus kaum Unterschiede erkennen ließen und ebenso die erhöhte Hyp-Ausscheidung nicht vom Vorliegen einer Arthritis abhing [44].



Abschließend noch einige Überlegungen zu der Frage, welche biochemischen Parameter bei der Ap geeignetere Marker der Krankheitsaktivität und -progression darstellen. Insgesamt zeigen biochemische Parameter bei der Ap meist nur moderate Veränderungen. Es können vor allem unspezifische Entzündungszeichen gefunden werden, die jedoch deutlich geringer ausfallen als bei der RA. So findet man eine beschleunigte BSG, eine CrP-Erhöhung, eine diskrete hypochrome Anämie sowie erhöhte Kupferspiegel und ein vermindertes Coeruloplasmin [21][81]. Teilweise sind bei der Ap auch erhöhte Harnsäurespiegel festzustellen, die möglicherweise auch auf den erhöhten Zellumsatz in der Haut zurückzuführen sind [49]. Zum Vergleich der Wertigkeit der verschiedenen serologischen Parameter in Bezug auf die Relation zur Krankheitsaktivität der Ap gibt es nur wenige Untersuchungen. HELLIWELL sieht in der BSG den besten Marker der Krankheitsaktivität, wenngleich das CrP mit bestimmten Kriterien der Krankheitsaktivität (globale ärztliche Einschätzung des Schweregrades der Ap, röntgenologische Erosionen) besser korrelierte [50]. CHLUD beschreibt (wenngleich am Beispiel der RA) dagegen mehrere Faktoren, die die BSG unabhängig von der Dynamik des Krankheitsprozesses beeinflussen und schlägt generell die Messung des CrP vor [15].

Es besteht jedoch auch die Frage, welchen Aspekt des Krankheitsgeschehens man mit den Laborparametern erfassen will. Mit den Entzündungsparametern wird letztlich die Intensität der Synovialitis erfaßt, die jedoch nicht zwangsläufig für das Ausmaß der Gelenkdestruktion verantwortlich ist. Für die RA zeigte FABBENDER die Schwierigkeit dieser Gleichsetzung von Synovialitis und Destruktion [30]. Die Synovialitis ist bei der RA lediglich Auslöser für die Bildung des kurzlebigen synoviogenen proliferativen Gewebes, das den Knorpel und den intrakapsulären Knochen arrodiiert. Bei der Ap wird wie oben beschrieben ein anderer Pathomechanismus vermutet, wonach die Gelenkzerstörung vom Knochen ausgeht und es möglicherweise erst sekundär zur Synovialitis kommt. Damit erhebt sich die Frage, ob mit den Entzündungsparametern eher eine mehr oder weniger ausgeprägte Begleitreaktion des eigentlichen Krankheitsprozesses gemessen wird, die sicher für den größten Teil der akuten Symptome (Schmerz, Morgensteifigkeit, Schwellung...) verantwortlich ist. Rein antiphlogistische Medikamente könnten zwar die Symptome lindern, den Umbau- bzw. Destruktionsprozeß aber nicht aufhalten.

Bei der medikamentösen Therapie wird einerseits ein antiphlogistischer und analgetischer Effekt angestrebt. Die Anwendung von NSAR bleibt aber symptomatisch auf die Synovialitis

ausgerichtet, ohne den destruierenden Prozeß beeinflussen zu können<sup>7</sup>. Für Methotrexat, eines der angewandten Basistherapeutika wurde neben der Suppression der Synovialitis auch ein Sistieren der röntgenmorphologischen Veränderungen am Knochen im Verlauf beschrieben. Dabei wurde insbesondere der antiinflammatorische Effekt des Methotrexat hierfür verantwortlich gesehen [67]. Möglicherweise spielen aber für das Aufhalten der Progression der Knochenumbauvorgänge und der Gelenkschädigung bei der Ap die für Methotrexat beschriebenen antiproliferativen und immunsuppressiven /-modulatorischen Wirkprinzipien eine größere Rolle.

Aus dem Gesagten kann die Hypothese abgeleitet werden, daß die Cl (gemeinsam mit hier nicht untersuchten Markern der Kollagenformation) möglicherweise Vorteile gegenüber den Entzündungsmarkern bei der Einschätzung der Intensität des Prognose-bestimmenden Grundprozesses haben - dies in der Annahme, daß der primäre Knochen- und Gelenkprozeß mehr als das Ausmaß der mehr oder weniger reaktiven Synovialitis für die Prognose entscheidend ist. Dagegen werden die Entzündungsmarker ihre Vorteile bei der Einschätzung der Intensität der für die aktuelle Symptomatik verantwortlichen Synovialitis behalten.

Zur weiteren Klärung dieser Frage könnten Therapie-Verlaufsstudien mit Entzündungsmarkern einerseits und Kollagenabbau markern andererseits im Zusammenhang mit der röntgenologischen Progression weitere Erkenntnisse liefern.

---

<sup>7</sup> Möglicherweise kommt einzelnen NSAR mit einer betonten Leukotriensynthesehemmung eine besondere Bedeutung bei der Ap zu, da es Hinweise für eine Psoriasis-immanente Veränderung im Leutriensystem gibt [77].

## **4.2. Krankheitsunabhängige Einflüsse auf die CL-Ausscheidung**

### **4.2.1. Abhängigkeit der CL-Ausscheidung vom Geschlecht**

In der Literatur sind zu geschlechtsspezifischen Unterschieden bei der CL-Ausscheidung unterschiedliche Angaben zu finden. BREADSWORTH [6] fand bei gesunden Probanden und CAHOON [12] bei Rhesusaffen keine Geschlechterdifferenzen bei der CL-Ausscheidung. KAMEL [61] kommt bei einer Gruppe von gesunden jüngeren Probanden (M=35 Jahre) zum gleichen Ergebnis. ZOLEZZI [134] beschreibt lediglich einen Anstieg der Dpyd-Ausscheidung bei Frauen in der Postmenopause, jedoch keine Unterschiede bei Pyd zwischen den Geschlechtern. Andererseits findet YOSHIHARA [132] generell höhere Werte in der CL-Ausscheidung bei Frauen im Vergleich zu Männern und ebenso betont PANTEGHINI [90] die Notwendigkeit geschlechtsspezifischer Referenzwerte. Unstrittig dagegen ist der postmenopausale Anstieg der CL-Ausscheidung bei den Frauen.

In der eigenen Kontrollgruppe lag die Ausscheidung beider CL im Urin bei den Frauen signifikant höher als bei den Männern, wobei das Verhältnis Pyd/Dpyd keinen Unterschied aufwies. Auch in der Ap-Gruppe zeigten sich geschlechtsspezifische Unterschiede. Bei der iAp fanden wir ebenfalls bei den Frauen eine signifikant höhere Pyd-Ausscheidung als bei den Männern, jedoch keine Unterschiede bei der Dpyd-Ausscheidung. Bei der aAp jedoch fanden wir keinen Unterschied bei Pyd im Urin zwischen den Geschlechtern und sogar eine tendenziell höhere Dpyd-Ausscheidung bei den Männern als bei den Frauen.

Das geschlechtsspezifisch unterschiedliche Verhalten von Pyd und Dpyd im Urin bei der Ap mit einem stärkeren relativen Anstieg der Pyd-Ausscheidung bei den Frauen zeigt sich auch in einem bei der Gesamt-Ap und der iAp signifikant höheren Pyd/Dpyd-Verhältnis bei den Frauen, was auch bei der aAp als Tendenz sichtbar wurde.

Dafür kommen die folgenden Faktoren als mögliche Ursachen in Betracht:

Daß die CL-Ausscheidung bei der Ko und der iAp bei den Frauen höher liegt und die oben genannten Studien hierbei zu unterschiedlichen Ergebnissen kommen, könnte zum Teil an den relativen Schwankungen der CL-Ausscheidung bei den Frauen im Rahmen des Menstruationszyklus liegen.

Das Durchschnittsalter der Frauen im Ap-Kollektiv liegt bei 50,2 Jahren. Damit befindet sich ein größerer Anteil der Frauen in der Postmenopause (56% gleich oder über 50 Jahre), für die in der Literatur ein Anstieg der CL-Ausscheidung beschrieben wurde. (Dagegen dürfte dieser Effekt keine Bedeutung für die höheren Werte bei den Frauen im Kontrollkollektiv bei einem Durchschnittsalter von  $38,0 \pm 10,5$  Jahren haben (14% gleich bzw. über 50 Jahre)).

Die höheren Dpyd-Werte der Männer bei der aAp könnten durch eine tendentiell höhere Krankheitsaktivität der Männer dieser Gruppe begründet sein (CrP m./w.:  $29,4 \pm 33,1$  vs.  $22,3 \pm 17,0$  (keine statistische Signifikanz)).

Allerdings können diese Fakten die Tatsache des erhöhten Pyd/Dpyd-Verhältnisses bei den Frauen nicht klären.

Für den bei den Frauen mit Ap beobachteten stärkeren prozentualen Anstieg der Pyd-Ausscheidung könnten somit schließlich geschlechtsspezifische Unterschiede im Krankheitsprozess der Ap verantwortlich sein.

Im Folgenden wird auf die einzelnen Punkte näher eingegangen.

### CL-Schwankungen im Menstruationszyklus

Die Literaturangaben zur CL-Ausscheidung im Verlaufe des Menstruationszyklus sind nicht einheitlich. SCHLEMMER [104] fand keine Schwankungen bei den CL im Urin, jedoch bei dem Knochenresorptionsmarker sICTP einen 17%igen Abfall in der Follikularphase. GORAI [41] dagegen konnte bei uDpyd von der späten Lutealphase bis zur mittleren Follikularphase ein Absinken und einen Anstieg in der frühen Lutealphase feststellen. Bei CHIU [14] findet sich die Angabe, daß sDpyd in der Follikularphase höher als in der Lutealphase ist, uDpyd jedoch keine Unterschiede zeigt. In der kürzlich von ZITTERMANN [133] veröffentlichten Studie wird dagegen von einer hohen Ausscheidung beider CL während der frühen Follikularphase und niedrige Spiegel in der frühen Lutealphase mit Amplituden von 33% bei Pyd und 32% bei Dpyd berichtet. Diese Schwankungen werden mit der Rhythmik der Sexualhormone erklärt, wobei insbesondere Korrelationen der CL mit Estradiol festgestellt werden konnten [133][14]. Warum hier allerdings hohe Estradiolspiegel mit einer erhöhten CL-Ausscheidung einhergehen, während ein Anstieg der CL-Ausscheidung sonst bei Estradiolmangel (bei E2-Mangelsyndromen und in der Postmenopause) beobachtet wird, ist unklar.

Offenbar besteht eine Zeitdifferenz zwischen Schwankungen der Estradiolspiegel und Schwankungen im Knochenmetabolismus, wofür die Daten in [34] sprechen würden. Danach stellte sich bei Ratten 14

Tage nach Ovariectomie eine erhöhte CL-Ausscheidung ein, die sich wiederum 14 Tage nach Beginn einer Estradiolsubstitution normalisierte. (Ein anderer biologischer Effekt, die Veränderung des Cholesterolspiegels, reagierte dagegen schon 4 Tage nach der Ovariectomie bzw. Estradiol-Substitution.) Angenommen, es käme auch beim Menschen zu einer Wirklatenz der Estradiolschwankungen auf den Knochenmetabolismus von 14 Tagen, würde dies einer "Phasenverschiebung" um eine halben Phasenlänge (14 Tage Wirklatenz bei einem Zykluslänge von 28 Tagen) entsprechen. Damit könnte eine "scheinpositive" Korrelation auftreten, wenn die Phasenverschiebung nicht beachtet wird. Eine bei Beachtung der Zeitdifferenz vorliegende negative Korrelation würde dem in vielen Studien nachgewiesenen Effekt der Hemmung der Knochenresorption durch Östrogene entsprechen.

Man kann spekulieren, daß das Maß der Verzögerung der Wirkung der Hormonschwankungen auf den Knochenmetabolismus möglicherweise einer Altersabhängigkeit unterliegt. Dies würde erklären, warum deutliche Schwankungen der CL-Ausscheidung nur bei ZITTERMANN [133] mit 10 gleichaltrigen Frauen um 25 Jahre gefunden wurden, in den Studien mit Frauen im Alter von 20 bis 45 Jahren jedoch nicht [14][104].

GINTY [37] fand, daß beachtliche intraindividuelle Schwankungen der CL-Ausscheidung zwischen zwei Tagen auftreten, die stärker als interindividuelle Differenzen seien. Seine Probanden waren zu 2/3 Frauen im Alter von 22-26 Jahren. Dies könnte ebenfalls als Hinweis auf menstruelle Schwankungen gesehen werden.

Zusammenfassend kann aus der Literatur zu diesem Thema entnommen werden, daß Schwankungen der CL-Ausscheidung im Rahmen des Menstruationszyklus bis zu 33% möglich sind. Dies kann zumindest teilweise für die höhere CL-Ausscheidung auch bei prämenopausalen Frauen im Vergleich zu den Männern im Kontrollkollektiv und bei der iAp zur Erklärung herangezogen werden.

### CL in der Postmenopause

In zahlreichen Studien ist ein postmenopausaler Anstieg der CL-Ausscheidung beschrieben worden. Es werden verglichen mit der prämenopausalen Kontrolle Anstiege der CL-Ausscheidung im Urin von 62% bzw. 77% bei Pyd und 82% bzw. 98% bei Dpyd angegeben [127][105]. SEIBEL [112] untersuchte postmenopausale Frauen in Gruppen mit und ohne Osteoporose (OP). Hier betrugen die Anstiege im Vergleich zu prämenopausalen Frauen für Pyd im Urin 53% in der gesunden Gruppe und 105% in der OP-Gruppe und für Dpyd im Urin 58% bzw. 95%. Die Werte der erstgenannten Studien dürften demnach Gesunde und Frauen mit Osteoporose umfassen und damit durchschnittliche Anstiege in der Normalpopulation beschreiben. Studien, die den zeitlichen Verlauf in den Jahren nach der Menopause

untersuchten, fanden, daß die CL-Ausscheidung mit zunehmendem Alter nicht rückläufig ist - also erhöht bleibt [63][120].

Als Ursache werden die erniedrigten Östrogenspiegel in der Postmenopause angenommen. In einer großen Zahl von Studien wurde bei einer Östrogensubstitution ein Absinken der CL-Ausscheidung auf das prämenopausale Niveau nachgewiesen (u. a. bei [127][112][105]). Zu dem beschriebenen postmenopausalen Anstieg der CL-Ausscheidung scheinen aber auch erhöhte FSH-Spiegel und Veränderungen im IGF-System beizutragen [35][58][64].

Bei der vorliegenden retrospektiven Arbeit konnte der Menopausestatus im weiblichen Ap-Kollektiv nicht erhoben werden. Um näherungsweise den postmenopausalen Anstieg in Ap-Kollektiv bestimmen zu können, wurden die Frauen unter 50 Jahren als prämenopausal und die Frauen über 50 Jahren als postmenopausal angenommen<sup>8</sup>. Bei dieser Gruppenbildung konnten in der Kontrollgruppe und bei der iAp keine Anstiege der CL-Ausscheidung nach dem 50. Lebensjahr, bei der aAp aber eine signifikante Erhöhung von Dpyd im Urin um 89% festgestellt werden, die sich als unabhängig von der Arthritisaktivität erwies. Der 51%ige postmenopausale Anstieg der Pyd-Ausscheidung bei der aAp erwies sich dagegen als nicht signifikant. Dies läßt sich mit den Ergebnissen der o.g. Studien insofern vereinbaren, als daß in manchen Studien ein stärkerer prozentualer Anstieg der Dpyd- als der Pyd-Ausscheidung in der Menopause gefunden wurde.

Insgesamt war aber in der weiblichen Gruppe ein wesentlich stärkerer krankheitsbedingter Anstieg von Pyd als von Dpyd zu finden, so daß ein postmenopausaler Anstieg von Pyd in diesem „untergehen“ könnte. Es bleibt damit die Frage, warum bei den Frauen der Pyd-Anstieg proportional stärker ausfällt als der von Dpyd und damit im Gegensatz zu den Männern das Verhältnis Pyd/Dpyd mit zunehmender Krankheitsaktivität steigt.

---

<sup>8</sup> Die prämenopausale Gruppe hätte auch die Frauen bis 45 Jahre umfassen können, wie z.B. bei [2] praktiziert. Der Vergleich der Frauen bis 45 mit denen ab 50 ließ die gleichen statistischen Aussagen zu wie die hier beschriebenen für den Vergleich der Frauen bis 50 mit denen ab 50 Jahre.

## Geschlechtsunterschiede im Krankheitsprozeß

Die Ap nimmt unter den rheumatischen Erkrankungen bei der Geschlechtsverteilung eine Mittelstellung ein. Während bei der RA ein deutliches Überwiegen der Frauen und auf der anderen Seite bei den seronegativen Spondarthritiden bzw. der Arthritis urica eine Dominanz des männlichen Geschlechts besteht, ist die Geschlechtsverteilung bei der Ap relativ ausgeglichen [47]. Allerdings zeigen sich Unterschiede in der Geschlechtsverteilung bei den unterschiedlichen Verlaufsformen. So dominieren die Frauen bei dem polyarthritischen RA-ähnlichen Typ und die Männer bei der psoriatischen Spondylarthropathie und bei dem bevorzugten Endgelenkbefall. Bei der multifaktoriellen Genese der OAP sind unterschiedliche Pathomechanismen anzunehmen, deren Kombination und jeweilige Gewichtung über den phänomenologischen Typ der Ap entscheiden wird. Es ist anzunehmen, daß geschlechtsspezifische Unterschiede im Hormonhaushalt, der genetischen Prädisposition und in der Struktur der beteiligten Gewebe dazu beitragen. So zeigte LARBRE an einem Rattenmodell Unterschiede im Aufbau von weiblichem und männlichem Knorpel und schloß auf eine stärkere Vulnerabilität weiblichen Knorpels gegenüber entzündlich-immunologischen Prozessen [74].

Im Knorpel von weiblichen Wistar-Ratten wurde ein niedrigerer Gehalt an Proteoglykanen und Kollagen sowie ein stärkerer spontaner Glucosaminoglykan-Verlust festgestellt.

Zusätzlich zeigten sich Unterschiede in der Funktion der Chondrozyten: männliche Chondrozyten wiesen eine höhere Glukosaminglykan-Syntheserate als weibliche Chondrozyten auf und zeigten eine deutlichere IL 1-induzierte Reduktion der Proteoglykan-Syntheserate. Daraus wurde die Hypothese abgeleitet, daß weiblicher Knorpel bei einem entzündlichen Geschehen schneller mit einer Demaskierung der Kollagenfibrillen reagiere und damit Kollagen-spezifischen Antikörpern und Kollagenasen mehr Angriffsfläche biete, die den irreversiblen Knorpelverlust einleiteten. Diese erhöhte Vulnerabilität trage möglicherweise zum Überwiegen der Frauen bei der RA bei.

Auf die Ap bezogen könnten diese Befunde zu der unterschiedlichen Geschlechtsverteilung bei den verschiedenen Verlaufsformen der Ap beitragen. Möglicherweise kommt es insgesamt bei den Frauen eher zu einer Knorpeldestruktion als bei den Männern. Dies könnte eine Erklärung für das nur bei den Frauen mit zunehmender Arthritisaktivität tendenziell steigende Verhältnis Pyd/Dpyd sein. Bei den Männern dagegen scheint mit zunehmender Arthritisaktivität eher die Menge an degradiertem Knochenkollagen anzusteigen. Dafür spricht auch, daß bei den Männern Pyd und Dpyd mit CrP korrelieren und bei den Frauen nur Pyd. (Für eine geschlechtsabhängige

unterschiedliche Verteilung der beiden CL in den Geweben gibt es in der Literatur keine Hinweise.)

#### 4.2.2. Abhängigkeit der CL-Ausscheidung vom Alter

Die Ausscheidung von Kollagen-CL ändert sich mit dem Alter in Abhängigkeit von der Aktivität der altersentsprechenden Bindegewebs-Umbauvorgänge und des hormonellen Status. In der Kindheit wird eine sehr hohe CL-Ausscheidung im Rahmen der Wachstumsprozesse festgestellt. Bis zur Pubertät kommt es zu einem kontinuierlichen Absinken der CL-Werte. Mit der Pubertät steigen diese deutlich und bei Mädchen mehr als bei Jungen an [83]. Mit dem Ende der Pubertät wird ein Absinken auf ein niedriges Niveau beschrieben, das nur noch einmal mit der Postmenopause bei den Frauen ansteigt [87]. Manche Autoren beschreiben einen Abfall der CL-Ausscheidung nach der 3. Lebensdekade [6][33][69]. Die Angaben zum Verhalten im Erwachsenenalter sind nicht einheitlich. Während die meisten Autoren (bis auf [6][93]) den oben beschriebenen Anstieg der CL mit der Menopause angeben, sieht KUSHIDA [72] auch schon vor der Menopause einen kontinuierlichen Anstieg bei den Frauen. YOSHIHARA gibt einen allmählichen Anstieg der CL mit dem Alter und generell höhere Werte bei den Frauen als bei den Männern an [132]. FATAYERJI beschreibt bei Männern einen kontinuierlichen Rückgang der Knochenmarker mit dem Alter und einem leichten Anstieg in der 8. Lebensdekade [33]. Für diese Veränderungen scheinen bei den Männern vor allem die kontinuierlich sinkenden Androgenspiegel, aber auch Veränderungen im IGF-System verantwortlich zu sein [33][131][108].

Im eigenen Kontrollkollektiv konnte in Übereinstimmung mit der Literatur bei den Männern eine signifikante inverse Korrelation beider CL mit dem Alter festgestellt werden, wobei die Dpyd-Ausscheidung stärker als die von Pyd mit dem Alter korrelierte ( $r=-0,60$  und  $p=0,000$  vs.  $r=-0,50$  und  $p=0,002$ ). Bei der Ap konnte dieser Zusammenhang nicht festgestellt werden. Hier könnte sich die Unterrepräsentation der Ap-Patienten in der 3. Lebensdekade auswirken.

Bei den Frauen zeigte in der Kontrollgruppe nur Pyd eine signifikante inverse Beziehung zum Alter. Dpyd dagegen zeigte trotz einer hohen Korrelation zu Pyd keinen altersabhängigen Abfall.



Dabei kam es zu keinem Abfall des Pyd/Dpyd-Verhältnisses. Die Ursache für dieses differente Verhalten beider CL bei den Frauen bleibt unklar. Bei der Ap konnte sogar ein Anstieg der Dpyd-Ausscheidung beobachtet werden, die im Rahmen des postmenopausalen Anstieges der Knochenresorption zu sehen ist und mit den Literaturangaben übereinstimmt.

### **4.3. Vergleich mit anderen Kollagendegradationsmarkern**

#### **4.3.1. Einführung**

Bei der Knochenresorption kommt es zur Kollagendegradation, bei der die Kollagenbruchstücke ins Blut gelangen, zum Teil durch Proteasen in der Leber weiter degradiert werden und über die Nieren ausgeschieden werden. Dabei erfolgt die Elimination zu ca. 30% in Form freier CL und zu ca. 70% in Form CL-vernetzter Peptide [48]. Neben der Messung der Ausscheidung der Pyridinium-CL mittels HPLC sind in den letzten Jahren mehrere Kollagen-I-spezifische CL-vernetzte Telopeptide beschrieben worden und deren Messung im Serum (ICTP) und im Urin (NTx, CTx) mittels Immunoassays möglich geworden. Der Anteil freier CL an der Gesamt-CL-Ausscheidung kann durch Immunoassays oder mit der HPLC-Methode gemessen werden, wenn die vorangehende Hydrolyse nicht erfolgt. In der Literatur finden sich viele Studien, in denen die einzelnen Marker auf ihre Sensitivität und Spezifität hin miteinander verglichen werden. Mehrere Studien berichten von einem stärkeren Absinken von NTx bei Therapie mit Biphosphonaten gegenüber den CL [98][107] und insbesondere freiem Dpyd [10][128][73]. Dabei fällt die Ausscheidung an Gesamt-Dpyd stärker ab als die von freiem Dpyd. RUBINACCI fand unter resorptionshemmender Therapie einen deutlichen Abfall des Gesamt-Dpyd bei gleichbleibender Ausscheidung von freiem Dpyd [100] (ähnliche Ergebnisse bei [126][61] und [79]). Manche Autoren sehen als Grund eine höhere Knochenspezifität von NTx gegenüber den CL.

RANDALL dagegen vermutet, daß die Unterschiede in der Sensitivität der freien und peptidgebundenen CL mit einer begrenzten prärenalen Kapazität zur Degradation der Peptide in Verbindung stehen könnte [95]. Danach würde bei einer vermehrten Kollagendegradation die Kapazität zur Degradation der Peptide und damit der Produktion freier CL überschritten, was zu einem relativ stärkeren Anstieg der Ausscheidung peptidgebundener CL und damit auch von NTx führen würde. Im gegenteiligen Fall würde dieses Modell das rasche Absinken von NTx bei

therapeutischer Resorptionshemmung bei gleichzeitig unveränderter oder nur gering abfallender fDpyd-Ausscheidung erklären.

Diese Degradationskapazität scheint aber von verschiedenen Faktoren abhängig zu sein. So nimmt die Kapazität mit dem Alter ab. KAMEL und DEL CAMPO berichten von einer Abnahme der absoluten Ausscheidung freier CL bei gleichzeitig steigender Gesamt-CL-Ausscheidung [62][22]. Auf der anderen Seite scheint sich diese Kapazität bei dauerhaft verändertem Peptidangebot längerfristig anzupassen (Enzyminduktion/ Downregulation). So berichtet KOLLERUP vom „Hinterherhinken“ der Absenkung der freien CL (4 Wochen) hinter dem stärksten Abfall der Gesamt-Dpyd-Ausscheidung 3 Wochen nach Beginn einer Biphosphonat-Therapie [71]. TOBIAS sah bei einem Abfall von pDpyd und tDpyd nach 6 Monaten Therapie dagegen kein Absinken von fDpyd auf das Niveau der Kontrollgruppe, was einer persistierend hohen Degradationskapazität entspräche [126].

Dieses Modell könnte auch die Diskrepanz zweier sich widersprechender Befunde zur intraindividuellen Variabilität der Marker erklären. Laut JU [60] zeigt fDpyd mit 16% geringere intraindividuelle Tag-zu-Tag-Schwankungen über 5 Monate als NTx (23%). Über einen Zeitraum von 9 Monaten betrachtet liegt die intraindividuelle Variabilität dagegen von NTx mit 20% deutlich niedriger als bei Gesamt-Dpyd mit 63 % [36], was auf stärkere Schwankungen des fDpyd-Anteil und damit der Degradationskapazität über diesen Zeitraum zurückgeführt werden könnte.

Bezüglich der Tagesschwankungen der CL gibt es differierende Angaben. AOSHIMA [3] fand signifikante Tagesschwankungen der CL-Ausscheidung nur bei den peptidgebunden CL, nicht jedoch bei den freien CL. JU [60] dagegen sah diese auch bei fDpyd, jedoch mit einer geringeren Varianz als bei NTx.

Die abgeschwächten Tagesschwankungen der freien CL und die größere Varianz von NTx weisen ebenfalls auf die begrenzte Degradationskapazität hin, zumal die für freie CL größere Clearance als für die Peptidformen [19] andernfalls größere Schwankungen bei den freien CL erwarten ließen.

In diesem Zusammenhang stellt sich auch die Frage, ob für Pyd- und Dpyd-vernetzte Peptide Unterschiede in der prärenalen Degradation bzw. der Elimination bestehen, wie von HEIN erwogen wurde [45]. Denkbar wären Unterschiede in der Verteilung der beiden CL auf verschiedene Peptidregionen, Unterschiede bei der Peptid-Degradation (unterschiedliche Enzym-Affinitäten zu den Peptidsequenzen in Nachbarschaft der beiden CL? verschiedene Enzyme? etc.) und der renalen Elimination. Hinweise für solche Unterschiede können u.a. darin gesehen werden, daß die Tagesschwankungen in der Ausscheidung von peptidgebundenem Dpyd stärker ausfallen als bei pPyd [3]. Diese Befunde könnten z.B. für eine schnellere renale Elimination von pDpyd im Vergleich zu pPyd sprechen. Andererseits scheint bei chronischer Niereninsuffizienz Dpyd stärker retiniert zu werden als Pyd, wodurch das Verhältnis Pyd/Dpyd im Serum im Vergleich zur Kontrolle niedriger ausfällt, während das Verhältnis bei Anurie durch absolute Retention beider CL wieder dem der gesunden Kontrolle entspricht [84]. Eastell fand bei der OP im Vergleich zur Kontrolle einen stärkeren Anstieg der Pyd-Ausscheidung als der von Dpyd. Gleichzeitig stieg unerwartet die Ausscheidung von fDpyd stärker als die von fPyd [26]. Dies könnte auf Unterschiede der Degradationskapazität für pDpyd und pPyd hindeuten.

Diese Unterschiede sind bislang jedoch nicht explizit untersucht worden. Von Bedeutung wären sie dann, wenn sich die Degradationskapazität oder die Eliminationsgeschwindigkeit beider CL so voneinander unterscheiden würden, so daß durch die unterschiedlichen Tagesausscheidungskurven der CL das Verhältnis Pyd/Dpyd im Spontanurin schwankt, ohne daß dies auf eine Änderung des resorbierten Gewebes zurückzuführen wäre. Bei einer schnelleren Elimination von Dpyd z.B. würde das Verhältnis Pyd/Dpyd am frühen Morgen zugunsten von Dpyd und am Nachmittag (Nadir) zugunsten von Pyd verschoben sein. Dies könnte unter der Verwendung der Daten aus [3] bedeuten, daß schon bei Gesunden unter der Annahme von Pyd-Schwankungen um 20% und Dpyd-Schwankungen um 40% das Verhältnis beider im Tagesverlauf um ca. 15% schwankt, ohne daß dies Folge einer veränderten Herkunft des abgebauten Kollagens wäre.

#### 4.3.2. NTx

In unserer Studie korreliert NTx mit beiden CL, etwas stärker jedoch mit Dpyd. Dies ist damit zu erklären, daß Dpyd ebenso spezifisch für das Kollagen-I des Knochens ist wie NTx und sich nur durch den Anteil an fDpyd von diesem unterscheidet. Bei Pyd stammt dagegen ein Anteil vom

Kollagen-II des Knorpels, dem Gewebe mit der höchsten absoluten Pyd-Konzentration überhaupt, bzw. aus der Synovialis.

NTx korreliert in der Gesamtgruppe nicht mit Entzündungsmarkern. Bei den Männern jedoch korreliert NTx stärker als Dpyd mit dem CrP und im Gegensatz zu Dpyd mit der BSG. Hier zeigt sich ein Zusammenhang der erhöhten Knochenresorption mit dem entzündlichen Gelenkprozeß. NTx als peptidgebundener CL-Anteil spiegelt diesen Zusammenhang mit dem akut entzündlichen Geschehen sensibler wider als Dpyd.

Dagegen fällt die Differenz bei Dpyd zwischen der aAp und der iAp mit 65% größer aus als bei NTx mit 25%, welche zudem im Gegensatz zur ersteren statistisch nicht signifikant ist. Dieser Befund wird durch die geringe Anzahl männlicher Patienten mit aAp, bei denen das NTx gemessen wurde (n=3 vs. n=15 bei iAp) relativiert. Mit Vorsicht könnte dies aber auch als Hinweis für die bessere Fähigkeit von Dpyd als von NTx zur Diskriminanz von Patientengruppen mit unterschiedlichem dispositionellem Schweregrad der Osteopathie gewertet werden.

Dies deckt sich insofern mit einer kürzlich von AL-AWADHI publizierten Studie [2], als NTx und fDpyd bei der aktiven Ap im Vergleich zur gesunden Kontrolle erhöht waren. Jedoch zeigte weder NTx noch fDpyd eine Korrelation mit der BSG und beide Marker blieben auch bei supprimierter Ap signifikant erhöht. Bei genauerer Betrachtung seiner Ergebnisse zeigen sich analoge Tendenzen wie in unserer Studie: NTx korreliert im Gegensatz zu fDpyd signifikant mit der Morgensteifheit, einem Symptom der Arthritis, während es keinen Unterschied zwischen den Gruppen mit aktiver und der supprimierter Arthritis aufweist. Dagegen fallen die fDpyd-Werte von der aAp zur iAp ab, erreichen aber nicht das Niveau der Kontrolle.

#### 4.3.3. Hydroxyprolin

Als weiteren Marker der Kollagen Degradation haben wir Hydroxyprolin im Urin (Hyp) mit den CL verglichen. Hydroxyprolin macht ca. 13% der Aminosäuren des Kollagens aus und ist in anderen Proteinen relativ selten zu finden. Der größte Anteil des im Urin ausgeschiedenen Hyp stellt deshalb ein Kollagen Degradationsprodukt dar. Allerdings können bis zu 40% des ausgeschiedenen Hyp von C1q stammen [24].

Hydroxyprolin entsteht bei der Kollagenreifung durch Hydroxylierung der im Kollagen eingebauten Aminosäure Prolin. Bei der Degradation von Kollagen frei werdendes Hydroxyprolin kann nicht bei der Kollagenneusynthese wiederverwendet werden und wird zu 85 bis 90% verstoffwechselt bzw. zu 10 bis 15% über den Harn ausgeschieden. Die Hydroxyprolin-Ausscheidung wird durch das Ausmaß des Kollagenabbaus und auch der Kollagensynthese bestimmt. Hinzu kommen alimentäre Einflüsse durch in der Nahrung enthaltenes Kollagen. Deshalb sollte vor der Bestimmung der Hydroxyprolin-Ausscheidung eine 48-stündige Kollagenfreie Diät (keine Fleisch- und Gelatine-haltigen Nahrungsmittel) eingehalten werden [18][122].

Nachteile gegenüber der Bestimmung der Kollagen-CL sind die Abhängigkeit von der Diät, die daraus folgende aufwendige Vorbereitung der Probenentnahme, die Beeinflussung durch das Ausmaß der Kollagensynthese und die fehlende Gewebespezifität.

Bei unserer Untersuchung wurde Hydroxyprolin im morgendlichen Spontanurin bestimmt und mit Kreatinin ins Verhältnis gesetzt. Auch wenn vor der Probengewinnung keine völlig Kollagenfreie Diät eingehalten wurde, korrelierte Hyp mit der Ausscheidung beider CL im Urin mit  $r=0,55$  bzw.  $0,54$ . Allerdings korrelierte Hyp nicht mit den Entzündungsmarkern (BSG und CrP) und zeigte einen deutlich geringere Differenz zwischen der Patientengruppe mit aktiver Ap gegenüber der Gruppe mit inaktiver Ap als die CL im Urin. Im Vergleich zur Kontrollgruppe wies Hyp bei der aAp sogar keine Erhöhung auf, wohingegen diese bei den CL im Urin noch deutlicher ausfiel. Dieser Befund steht im Widerspruch zu dem früheren Befund von HEIN [44], wonach Hyp bei der Ap und der Psoriasis erhöht ist. Hier konnte allerdings eine Abhängigkeit von der Schwere des Hautbefundes gesichert werden. Ein Ergebnis, das wir in der vorliegenden Untersuchung für die Ap nicht reproduzieren konnten. (Im PS-Kollektiv wurde Hyp im Urin von uns nicht erfaßt.) Es wurde aber die Vermutung geäußert, daß die erhöhte Hyp-Ausscheidung bei der PS und Ap nicht ausschließlich auf die Hautmanifestation zurückzuführen sei, sondern aufgrund des histomorphometrisch nachgewiesenen high-turnover-remodeling auch auf den erhöhten Umsatz von Knochenskollagen.

Für die Osteoporose finden sich entsprechende Angaben, wonach Hyp zwar mit den CL im Urin korreliert, aber geringere Veränderungen im Vergleich zur gesunden Kontrolle zeigt [26] und laut SEIBEL [112] im Gegensatz zu Dpyd im Urin keine Unterscheidung zwischen gesunden postmenopausalen Frauen und solchen mit OP erlaubt. Delmas sah ebenfalls bei der OP keine Korrelation der Hyp-Ausscheidung mit histomorphometrischen Parametern der

Knochendegradation, wohingegen diese mit Dpyd und etwas schwächer auch mit Pyd korrelierten [23].

Durch eine hohe Streuung der Werte der Hyp-Ausscheidung bei geringem Kollagenabbau weist Hyp nur bei Zuständen mit einem stark gesteigerten Knochenmetabolismus (z.B. M. Paget, Kindheit) die gleiche diagnostische Wertigkeit auf wie die CL [7] und wird deshalb nur bei Morbus Paget, Akromegalie, Hyperparathyreoidismus und Knochenmetastasen als diagnostischer und Verlaufsparemeter empfohlen [24][122].

Insgesamt erweist sich die Messung von Hyp im Urin gegenüber den CL im Urin bei der Beurteilung der Arthrititsaktivität im Einklang mit der Literatur in unserer Untersuchung - auch bei durch die Probengewinnung eingeschränkter Beurteilbarkeit der Ergebnisse - unterlegen.

#### 4.3.4. CL im Serum

Bislang wurde von nahezu allen Untersuchern die quantitative Bestimmung der CL im Urin vorgenommen, da die CL nach der renalen Elimination im Urin in deutlich höheren Konzentrationen vorliegen als im Serum. Durch eine veränderte Methode wurde jetzt auch der quantitative Nachweis beider CL im Serum möglich. Ein Vorteil der Messung im Serum könnte für die klinische Praxis in der entfallenden Notwendigkeit zur Kreatinin-Bestimmung als Bezugsgröße liegen.

Es war zu klären, ob die im Serum gemessenen CL mit denen im Urin korrelieren, ob die Serum-CL einen Bezug zur Krankheitsaktivität haben und ob weitere Aussagen zur Metabolisierung und Elimination der CL möglich sind.

Bei unserer Untersuchung erhoben wir folgende Befunde:

Bei der Ap lag das Pyd/Dpyd-Verhältnis im Serum mit  $MW=2,6$  (Median 1,6) signifikant niedriger als im Urin bei  $MW=4,1$  (Median 3,8) ( $p<0,001$  im Wilcoxon-Test für abhängige Stichproben)

Im Ap-Kollektiv korrelierte die Cl-Ausscheidung weder bei Pyd noch bei Dpyd mit den entsprechenden Serumkonzentrationen. Auch das Verhältnis Pyd/Dpyd im Urin zeigte keine Korrelation zum entsprechenden Serumwert.

Zwischen Pyd und Dpyd bestand nur bei den Urin-Werten eine Korrelation.

Das Pyd/Dpyd-Verhältnis zeigte im Serum eine wesentlich größere Streuung als im Urin.

Diese Ergebnisse entsprechen im wesentlichen denen, die in unserer Arbeitsgruppe bei der RA gefunden wurden [45]. Hier korrelierten nur die Pyd-Werte im Serum mit denen im Urin, das Verhältnis Pyd/Dpyd betrug im Serum 2,05 und im Urin 4,90.

Da das Verhältnis Pyd/Dpyd im Kollagen mit dem höchsten Dpyd-Anteil (Kollagen-Typ-I) 3 bis 4:1 beträgt, sind die Pyd/Dpyd-Werte unter 3 im Serum nicht plausibel, d. h. sie bilden nicht das wahre Verhältnis der bei der Kollagendegradation freigesetzten CL Pyd und Dpyd zueinander ab. Die niedrigeren Werte im Serum können nur durch eine Akkumulation von Dpyd, bzw. eine schnellere Elimination von Pyd erklärt werden. Damit ergeben sich Hinweise auf einen prärenal unterschiedlichen Metabolismus und/oder eine unterschiedliche Elimination von Pyd und Dpyd bzw. den CL-vernetzten Kollagenbruchstücken [45].

Allerdings stehen diese Ergebnisse im Widerspruch zu einer anderen Studie, in der Serum- und Urinwerte bei beiden CL miteinander korrelierten und das Verhältnis Pyd/Dpyd zwischen beiden Medien keine Differenzen zeigte [115]. Weiterhin wurden bei Paget-Patienten deutlich erhöhte Serum-CL-Werte festgestellt. Walne fand bei Patienten mit Knochenmetastasen ebenfalls erhöhte Serum-CL und gute Korrelationen zwischen beiden CL im Serum [129]. Eine Erklärung dieser Diskrepanz zu unseren Resultaten könnte in Unterschieden in der Probenvorbereitung der Seren liegen (u.a. ein Ultrafiltrationsschritt).

## Zusammenfassung

Beide im Urin quantifizierten Kollagendegradationsmarker NTX und Hyp korrelieren mit den CL. Während Hyp im Gegensatz zu den CL keine Korrelationen zu Entzündungszeichen zeigte, fanden wir einen solchen Zusammenhang bei NTx im männlichen Ap-Kollektiv. Wenn dieser zwar stärker ausfällt als bei dem ebenfalls Knochen-spezifischen Dpyd, scheint Dpyd besser zwischen der Gruppe mit aktiver Ap und inaktiver Ap zu diskriminieren. Diese Diskrepanz könnte mit einem vermuteten Unterschied im Ansprechen peptidgebundener und freier CL auf kurz- und langfristige Änderungen der Knochenresorption zu tun haben.

Die Quantifizierung der CL im Serum ist durch eine modifizierte Probenvorbereitung möglich. Allerdings zeigen die Serumwerte keine Korrelationen zu den Urin-Werten und kaum Beziehungen zu den Entzündungsmarkern. In Anbetracht der in der Literatur berichteten guten Korrelationen mit den Urin-Werten müssen methodische Einflüsse bzw. Fehlerquellen als Ursache in Erwägung gezogen werden. Dennoch spricht der signifikante Unterschied des Verhältnisses Pyd/Dpyd zwischen Urin und Serum für eine differente Metabolisierung bzw. Eliminationskinetik beider CL.



## V. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die CL den gesteigerten Kollagenabbau im Rahmen der Knochenumbauprozesse bei der OAP widerspiegeln.

Dabei konnte bei der iAp und der PS nur eine Tendenz zu einer vermehrten CL-Ausscheidung gegenüber der gesunden Kontrolle festgestellt werden. Dieses Ergebnis läßt sich nur bedingt mit dem histomorphometrischen Befund eines high-turnover-remodeling bei der Psoriasis-Krankheit in Übereinstimmung bringen. Als Ursachen können u.a. eine partielle Kollagen-„Verschonung“ beim psoriatischen Knochenumbau sowie ein pulshafter Prozess diskutiert werden, die eine Abbildung der Prozesse mit Kollagendegradationsmarkern erschweren würden.

Dagegen zeigte sich ein signifikanter Anstieg der CL-Ausscheidung im Zusammenhang mit der Arthritisaktivität. Beide CL korrelieren mit dem Akute-Phase-Protein CrP und Pyd auch mit der BSG. Hierbei kommt es sichtbar am signifikanten Anstieg der Dpyd-Ausscheidung zu einem gesteigerten Knochenumsatz. Der stärkere Anstieg von Pyd gegenüber Dpyd und damit die Erhöhung des Pyd/Dpyd-Verhältnisses weist auf eine zusätzliche Kollagendegradation der gelenkbildenden Gewebe (Knorpel, Synovialis) hin, deren Kollagen fast ausschließlich Pyd enthält.

Diese Ergebnisse erlauben allerdings nicht die Beantwortung der Frage, ob der erhöhte Knochenumbau Ursache – im Sinne einer psoriatischen Osteopathie mit Übergreifen auf die Gelenke – ist, oder ob er eine Folge der Arthritis darstellt.

Im Vergleich mit der RA zeigt sich bei der Ap und insbesondere bei den Männern ein stärkerer Anstieg von Dpyd. Dies kann in dem Sinne interpretiert werden, daß erstens bei der Ap gegenüber der RA eine Betonung des Knochenumsatzes vorliegt und zweitens bei der RA die synovitische Komponente (Knorpeldegradation und Synovialitis) stärker ausfällt.

Da bei der RA eine arthritissabhängig gesteigerte Knochenresorption bekannt ist, sprechen diese Ergebnisse bei der Ap für das Vorliegen eines darüberhinausgehenden Knochenumsatzes bei der Ap. Hier kann eine Übereinstimmung mit den szintigrafischen und pathomorphologischen Befunden einer krankheitsimmanenten psoriatischen Osteopathie gesehen werden.

In der untersuchten Gruppe von Ap-Patienten fanden sich deutliche Unterschiede in der CL-Ausscheidung zwischen den Geschlechtern. Neben den höheren Werten beider CL bei den Frauen und deren postmenopausalem Anstieg zeigte sich eine deutliche Differenz dahingehend, daß es mit zunehmender Arthritisaktivität bei den Männern gleichermaßen zum Anstieg von Pyd und Dpyd als Ausdruck der Knochenresorption kam, während bei den Frauen ähnlich der RA ein wesentlich stärkerer Pyd-Anstieg zu beobachten war. Dieses Ergebnis deutet auf geschlechtsspezifische Unterschiede im Krankheitsprozeß hin (Intensität des Knochenprozesses, Vulnerabilität der Knorpelsubstanz?).

Im Vergleich zu Hydroxyprolin zeigten beide CL einen deutlich stärkeren Anstieg bei der aktiven Arthritis. Auch wenn Hyp keine Korrelation mit der Hautmanifestation zeigte, kann eine diesbezügliche Beeinflussung vermutet werden, was dessen Spezifität für Knochen- und Knorpeldegradationsvorgänge deutlich einschränkt.

NTx, das wie Hyp mit beiden CL korrelierte, zeigte einen tendentiellen Anstieg bei aktiver Arthritis, der deutlich niedriger ausfiel als der der beiden CL. Allerdings korrelierte NTx mit dem CrP stärker als Dpyd. Dieser Widerspruch könnte auf ein unterschiedliches Verhalten der peptidgebundenen CL (NTx) im Vergleich zur Gesamt-CL-Ausscheidung bei kurzfristigen Schwankungen der Knochenresorption bzw. länger andauernden Zuständen mit erhöhtem Knochenumsatz hindeuten.

Wir konnten zeigen, daß die CL im Serum quantitativ erfaßt werden können. Diese korrelieren aber weder untereinander noch mit der CL-Ausscheidung im Urin. Damit erwies sich in unserer Studie die Messung der CL-Ausscheidung im Urin als die Methode mit der höchsten Sensitivität zur Einschätzung der Ap-assoziierten Kollagenabbauvorgänge. Deshalb muß prospektiv geprüft werden, ob der Messung der CL-Ausscheidung bei der Ap eine Bedeutung bei der Beurteilung der Intensität der Knochenumbauvorgänge und des Ansprechens auf eine medikamentöse Therapie zukommt. (So muß die Frage geklärt werden, ob ein fehlender Abfall der CL bei gleichzeitig gutem Ansprechen der Entzündungsparameter auf die antirheumatische Therapie ein Prädiktor für eine letztlich ungünstige Prognose in Bezug auf die Entwicklung von Gelenkdestruktionen und nachfolgenden Behinderungen darstellt.)

Insbesondere vor dem Hintergrund der klinisch „stummen“ psoriatischen Osteopathie, deren Intensität bei Gelenknähe die Prognose möglicherweise mitbestimmt, und der Notwendigkeit zum Monitoring dieser Vorgänge wären weitere Studien zum Verhalten der CL in Verbindung

mit bildgebenden Verfahren, zur Progression der strukturellen Veränderungen und zum therapeutischen Ansprechen auf Medikamente bei der Ap sinnvoll.

## Literaturverzeichnis

- [1] al-Awadhi, A.M.; Olusi, S.O.; al-Zaid, N.S.; Prabha, K.; al-Jarallah, K.H.; Ahmed, A.H.; al-Salem, I.; Sedeqi, H.; Atteyah, Y.: Urine levels of type 1 collagen cross-linked N-telopeptides and deoxypyridinoline correlate with disease activity in rheumatoid arthritis. Clin Exp Rheumatol 16 (5): S. 569-572, 1998.
- [2] al-Awadhi, A.M.; Olusi, S.O.; Al-Zaid, N.S.; George, S.; Sugathan, T.N.: Spot urine concentrations of type I collagen cross-linked N- telopeptides and deoxypyridinoline in psoriatic arthritis. Clin Rheumatol 18 (6): S. 450-454, 1999.
- [3] Aoshima, H.; Kushida, K.; Takahashi, M.; Ohishi, T.; Hoshino, H.; Suzuki, M.; Inoue, T.: Circadian variation of urinary type I collagen crosslinked C- telopeptide and free and peptide-bound forms of pyridinium crosslinks. Bone 22 (1): S. 73-78, 1998.
- [4] Apone, S.; Lee, M.Y.; Eyre, D.R.: Osteoclasts generate cross-linked collagen N-telopeptides (NTx) but not free pyridinolines when cultured on human bone. Bone 21 (2): S. 129-136, 1997.
- [5] Barber, M.; Bordoli, R.S.; Elliott, G.J.; Fujimoto, D.; Scott, J.E.: The structure(s) of pyridinoline(s). Biochem Biophys Res Commun 109 (3): S. 1041-1046, 1982.
- [6] Beardsworth, L.J.; Eyre, D.R.; Dickson, I.R.: Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxylysylpyridinoline, two new markers of bone collagen turnover. J Bone Miner Res 5 (7): S. 671-676, 1990.
- [7] Bettica, P.; Moro, L.; Robins, S.P.; Taylor, A.K.; Talbot, J.; Singer, F.R.; Baylink, D.J.: Bone-resorption markers galactosyl hydroxylysine, pyridinium crosslinks, and hydroxyproline compared. Clin Chem 38 (11): S. 2313-2318, 1992.
- [8] Black, D.; Duncan, A.; Robins, S.P.: Quantitative analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography. Anal Biochem 169 (1): S. 197-203, 1988.

- [9] Black, D.; Marabani, M.; Sturrock, R.D.; Robins, S.P.: Urinary excretion of the hydroxypyridinium cross links of collagen in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 48 (8): S. 641-644, 1989.
- [10] Blumsohn, A.; Naylor, K.E.; Assiri, A.M.; Eastell, R.: Different responses of biochemical markers of bone resorption to bisphosphonate therapy in Paget disease. *Clin Chem* 41 (11): S. 1592-1598, 1995.
- [11] Burger, D.: Cell contact interactions in rheumatology, The Kennedy Institute for Rheumatology, London, UK, 1-2 June 2000. *Arthritis Res* 2 (6): S. 472-476, 2000.
- [12] Cahoon, S.; Boden, S.D.; Gould, K.G.; Vailas, A.C.: Noninvasive markers of bone metabolism in the rhesus monkey: normal effects of age and gender. *J Med Primatol* 25 (5): S. 333-338, 1996.
- [13] Cantatore, F.P.; Loverro, G.; Ingrosso, A.M.; Lacanna, R.; Sassanelli, E.; Selvaggi, L.; Carrozzo, M.: Effect of oestrogen replacement on bone metabolism and cytokines in surgical menopause. *Clin Rheumatol* 14 (2): S. 157-160, 1995.
- [14] Chiu, K.M.; Ju, J.; Mayes, D.; Bacchetti, P.; Weitz, S.; Arnaud, C.D.: Changes in bone resorption during the menstrual cycle. *J Bone Miner Res* 14 (4): S. 609-615, 1999.
- [15] Chlud, K.: [Are inflammation parameters true signs of activity? A contribution to the problem of process activity and progression in chronic polyarthritis]. *Z Rheumatol* 44 (1): S. 14-19, 1985.
- [16] Christenson, R.H.: Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem* 30 (8): S. 573-593, 1997.
- [17] Colwell, A.; Eastell, R.; Assiri, A.M.; Russell, R.G.: Effect of diet on deoxypyridinoline excretion. In: Christiansen, C.; Overgaard, K. (Hrsg.), *Osteoporosis 1990*: Osteopress, Copenhagen: S. 590-591, 1990.
- [18] Colwell, A.; Russell, R.G.; Eastell, R.: Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxy pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption. *Eur J Clin Invest* 23 (6): S. 341-349, 1993.

- [19] Colwell, A.; Eastell, R.: The renal clearance of free and conjugated pyridinium cross-links of collagen. *J Bone Miner Res* 11 (12): S. 1976-1980, 1996.
- [20] Cunnane, G.; Hummel, K.M.; Muller-Ladner, U.; Gay, R.E.; Gay, S.: Mechanism of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 46 (1): S. 1-7, 1998.
- [21] Daunt, A.O.; Cox, N.L.; Robertson, J.C.; Cawley, M.I.: Indices of disease activity in psoriatic arthritis. *J R Soc Med* 80 (9): S. 556-558, 1987.
- [22] Del Campo, M.T.; Gonzalez-Casaus, M.L.; Aguado, P.; Bernad, M.; Carrera, F.; Martinez, M.E.: Effects of age, menopause and osteoporosis on free, peptide-bound and total pyridinium crosslink excretion. *Osteoporos Int* 9 (5): S. 449-454, 1999.
- [23] Delmas, P.D.; Schlemmer, A.; Gineyts, E.; Riis, B.; Christiansen, C.: Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J Bone Miner Res* 6 (6): S. 639-644, 1991.
- [24] Delmas, P.D.: Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res* 8 Suppl 2: S. S549-555, 1993.
- [25] Dunky, A.: Zum klinischen Bild der Arthritis psoriatica I. In: Schilling, F., (Hrsg.). *Arthritis und Spondylitis psoriatica*. Steinkopff Verlag Darmstadt, S. 95-98, 1986.
- [26] Eastell, R.; Robins, S.P.; Colwell, T.; Assiri, A.M.; Riggs, B.L.; Russell, R.G.: Evaluation of bone turnover in type I osteoporosis using biochemical markers specific for both bone formation and bone resorption. *Osteoporos Int* 3 (5): S. 255-260, 1993.
- [27] Eidner, T.; Lehmann, G.; Oelzner, P.; Müller, A.; Stein, G.; Hein, G.: Relationship between biochemical and histomorphometric parameters of bone turnover. *Osteoporosis Int* 11 (Suppl.2): S.62, 2000.
- [28] Fassbender, H.G.: Extra-articular processes in osteoarthropathia psoriatica. *Arch Orthop Trauma Surg* 95 (1-2): S. 37-46, 1979.

- [29] Fassbender, H.G.: Strukturelle Grundlagen und Pathomechanismen von Arthritis und Arthrose. Dtsch Med Wochenschr 105 (24): S. 864-867, 1980.
- [30] Fassbender, H.G.: Das Krankheitsbild der Rheumatoiden Arthritis als Ergebnis unterschiedlicher Pathomechanismen. Z Rheumatol 44 (1): S. 33-40, 1985.
- [31] Fassbender, H.G.: Der psoriatische Knochenprozeß. In: Wollina, U., Hein, G., Knopf, B., (Hrsg.). Psoriasis und Gelenkerkrankung. Gustav Fischer Verlag Jena , Stuttgart, S. 65-75, 1996.
- [32] Fassbender, H.G.: What destroys the joint in rheumatoid arthritis? Arch Orthop Trauma Surg 117 (1-2): S. 2-7, 1998.
- [33] Fatayerji, D.; Eastell, R.: Age-related changes in bone turnover in men. J Bone Miner Res 14 (7): S. 1203-1210, 1999.
- [34] Frolik, C.A.; Bryant, H.U.; Black, E.C.; Magee, D.E.; Chandrasekhar, S.: Time-dependent changes in biochemical bone markers and serum cholesterol in ovariectomized rats: effects of raloxifene HCl, tamoxifen, estrogen, and alendronate. Bone 18 (6): S. 621-627, 1996.
- [35] Garnero, P.; Sornay-Rendu, E.; Chapuy, M.C.; Delmas, P.D.: Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. J Bone Miner Res 11 (3): S. 337-349, 1996.
- [36] Gertz, B.J.; Shao, P.; Hanson, D.A.; Quan, H.; Harris, S.T.; Genant, H.K.; Chesnut, C.H., 3rd; Eyre, D.R.: Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. J Bone Miner Res 9 (2): S. 135-142, 1994.
- [37] Ginty, F.; Flynn, A.; Cashman, K.: Inter and intra-individual variations in urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen in healthy young adults. Eur J Clin Nutr 52 (1): S. 71-73, 1998.

- [38] Gladman, D.D.; Farewell, V.T.: The role of HLA antigens as indicators of disease progression in psoriatic arthritis. Multivariate relative risk model. *Arthritis Rheum* 38 (6): S. 845-850, 1995.
- [39] Gladman, D.D.; Farewell, V.T.; Nadeau, C.: Clinical indicators of progression in psoriatic arthritis: multivariate relative risk model. *J Rheumatol* 22 (4): S. 675-679, 1995.
- [40] Goldring, S.R.; Gravallesse, E.M.: Pathogenesis of bone erosions in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 12 (3): S. 195-199, 2000.
- [41] Gorai, I.; Taguchi, Y.; Chaki, O.; Kikuchi, R.; Nakayama, M.; Yang, B.C.; Yokota, S.; Minaguchi, H.: Serum soluble interleukin-6 receptor and biochemical markers of bone metabolism show significant variations during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 83 (2): S. 326-332, 1998.
- [42] Gough, A.K.; Peel, N.F.; Eastell, R.; Holder, R.L.; Lilley, J.; Emery, P.: Excretion of pyridinium crosslinks correlates with disease activity and appendicular bone loss in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 53 (1): S. 14-17, 1994.
- [43] Hein, G.; Knopf, B.; Wollina, U.; Abendroth, K.; Wessel, G.: Die Psoriatische Osteopathie -Ergebnisse histomorphometrischer Untersuchungen. *Z Hautkr* 65 (9): S. 820-822, 1990.
- [44] Hein, G.; Abendroth, K.; Muller, A.; Wessel, G.: Studies on psoriatic osteopathy. *Clin Rheumatol* 10 (1): S. 13-17, 1991.
- [45] Hein, G.; Muller, A.; Franke, S.; Kloth, M.; Spors, E.: Untersuchungen zur Korrelation der Pyridinium-Crosslinks (gemessen im Urin und im Serum) bei der rheumatoiden Arthritis. *Akt Rheumatol* 20: S. 140-144, 1995.
- [46] Hein, G.: Die Psoriasis - eine Allgemeinerkrankung? In: Wollina, U., Hein, G., Knopf, B., (Hrsg.). *Psoriasis und Gelenkerkrankungen*. Gustav Fischer Verlag Jena Stuttgart, S. 17-33, 1996.



- [47] Hein, G.: Manifestation am Bewegungsapparat - Psoriatische Osteoarthropathie. In: Wollina, U., Hein, G., Knopf, B., (Hrsg.). Psoriasis und Gelenkerkrankungen. Gustav Fischer Verlag Jena Stuttgart, S. 53-62, 1996.
- [48] Hein, G.: Biochemische Marker des Knochenmetabolismus. arthritis und rheuma 17 (4): S. 204-209, 1997.
- [49] Hein, G.: Klinisches Bild und Laborbefunde bei der Arthritis psoriatica. Aktuelle Rheumatologie 25: S. 108-112, 2000.
- [50] Helliwell, P.S.; Marchesoni, A.; Peters, M.; Platt, R.; Wright, V.: Cytidine deaminase activity, C reactive protein, histidine, and erythrocyte sedimentation rate as measures of disease activity in psoriatic arthritis. Ann Rheum Dis 50 (6): S. 362-365, 1991.
- [51] Holzmann, H.; Hoede, N.; Eissner, D.; Hahn, K.: Die psoriatische Osteoarthropathie. Hautarzt 30 (7): S. 343-348, 1979.
- [52] Holzmann, H.: Die psoriatische Osteoarthropathie aus heutiger Sicht. Z Hautkr 60 (24): S. 1917-1928, 1985.
- [53] Holzmann, H.; Altmeyer, P.: Die psoriatische Osteopathie aus dermatologischer Sicht. In: Schilling, F., (Hrsg.). Arthritis und Spondylitis psoriatica. Steinkopff Darmstadt, S. 73-81, 1986.
- [54] Holzmann, H.; Werner, R.J.; Hor, G.; Maul, F.D.: Die Bedeutung von "hot spots" bei der psoriatischen Skelettbeteiligung. Hautarzt 42 (9): S. 564-569, 1991.
- [55] Holzmann, H.; Werner, R.J.; Maul, F.D.; Hor, G.: Zur Kenntnis des Köbner-Phänomens am Skelett des Psoriaticus. Hautarzt 43 (10): S. 645-651, 1992.
- [56] Holzmann, H.; Krause, B.J.; Kaltwasser, J.P.; Werner, R.J.: Die Psoriatische Osteoarthropathie und Knochenszintigrafie. Hautarzt 47 (6): S. 427-431, 1996.
- [57] Ibrahim, S.; Mojiminiyi, S.; Barron, J.L.: High-performance liquid chromatographic determination of pyridinium crosslinks in serum, urine and dialysate of patients in chronic renal failure. Ann Clin Biochem 33 (Pt 1): S. 31-35, 1996.

- [58] Itatsu, S.; Kudo, Y.; Iguchi, T.; Takeda, Y.: [Studies on the bone metabolisms in either after natural menopause or surgical menopause: implications of IGF-IGFBP system for postmenopausal osteoporosis]. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 47 (12): S. 1329-1336, 1995.
- [59] James, I.; Crowley, C.; Perrett, D.: Assay of pyridinium crosslinks in serum using narrow-bore ion-paired reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 612 (1): S. 41-48, 1993.
- [60] Ju, H.S.; Leung, S.; Brown, B.; Stringer, M.A.; Leigh, S.; Scherrer, C.; Shepard, K.; Jenkins, D.; Knudsen, J.; Cannon, R.: Comparison of analytical performance and biological variability of three bone resorption assays. *Clin Chem* 43 (9): S. 1570-1576, 1997.
- [61] Kamel, S.; Brazier, M.; Desmet, G.; Picard, C.; Menecier, I.; Sebert, J.: High-performance liquid chromatographic determination of 3- hydroxypyridinium derivatives as new markers of bone resorption. *J Chromatogr* 574 (2): S. 255-260, 1992.
- [62] Kamel, S.; Brazier, M.; Rogez, J.C.; Vincent, O.; Maamer, M.; Desmet, G.; Sebert, J.L.: Different responses of free and peptide-bound cross-links to vitamin D and calcium supplementation in elderly women with vitamin D insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 81 (10): S. 3717-3721, 1996.
- [63] Kawana, K.; Kushida, K.; Takahashi, M.; Ohishi, T.; Denda, M.; Yamazaki, K.; Inoue, T.: The effect of menopause on biochemical markers and ultrasound densitometry in healthy females. *Calcif Tissue Int* 55 (6): S. 420-425, 1994.
- [64] Kim, J.G.; Shin, C.S.; Choi, Y.M.; Moon, S.Y.; Kim, S.Y.; Lee, J.Y.: The relationship among circulating insulin-like growth factor components, biochemical markers of bone turnover and bone mineral density in postmenopausal women under the age of 60. *Clin Endocrinol (Oxf)* 51 (3): S. 301-307, 1999.

- [65] Kimble, R.B.; Matayoshi, A.B.; Vannice, J.L.; Kung, V.T.; Williams, C.; Pacifici, R.: Simultaneous block of interleukin-1 and tumor necrosis factor is required to completely prevent bone loss in the early postovariectomy period. *Endocrinology* 136 (7): S. 3054-3061, 1995.
- [66] Kitazawa, R.; Kimble, R.B.; Vannice, J.L.; Kung, V.T.; Pacifici, R.: Interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor binding protein decrease osteoclast formation and bone resorption in ovariectomized mice. *J Clin Invest* 94 (6): S. 2397-2406, 1994.
- [67] Knopf, B.: Methotrexat. In: Wollina, U., Hein, G., Knopf, B., (Hrsg.). *Psoriasis und Gelenkerkrankungen*. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, S. 197-205, 1996.
- [68] Koivukangas, V.; Kallionen, M.; Karvonen, J.; Autio-Harmainen, H.; Risteli, J.; Risteli, L.; Oikarinen, A.: Increased collagen synthesis in psoriasis in vivo. *Arch Dermatol Res* 287 (2): S. 171-175, 1995.
- [69] Kollerup, G.; Thamsborg, G.; Bhatia, H.; Sorensen, O.H.: Quantitation of urinary hydroxypyridinium cross-links from collagen by high-performance liquid chromatography. *Scand J Clin Lab Invest* 52 (7): S. 657-662, 1992.
- [70] Kollerup, G.; Hansen, M.; Horslev-Petersen, K.: Urinary hydroxypyridinium cross-links of collagen in rheumatoid arthritis. Relation to disease activity and effects of methylprednisolone. *Br J Rheumatol* 33 (9): S. 816-820, 1994.
- [71] Kollerup, G.; Sorensen, H.A.; Hyldstrup, L.; Storm, T.: Assessment of different markers of bone resorption in postmenopausal osteoporotic women treated with pamidronate. *Scand J Clin Lab Invest* 57 (6): S. 479-486, 1997.
- [72] Kushida, K.; Takahashi, M.; Kawana, K.; Inoue, T.: Comparison of markers for bone formation and resorption in premenopausal and postmenopausal subjects, and osteoporosis patients. *J Clin Endocrinol Metab* 80 (8): S. 2447-2450, 1995.

- [73] Kyd, P.A.; De Vooght, K.; Kerkhoff, F.; Thomas, E.; Fairney, A.: Clinical usefulness of biochemical resorption markers in osteoporosis. *Ann Clin Biochem* 36 (Pt 4): S. 483-491, 1999.
- [74] Larbre, J.P.; Da Silva, J.A.; Moore, A.R.; James, I.T.; Scott, D.L.; Willoughby, D.A.: Cartilage contribution to gender differences in joint disease progression. A study with rat articular cartilage. *Clin Exp Rheumatol* 12 (4): S. 401-408, 1994.
- [75] Loreck, D.: Röntgenmorphologie der psoriatischen Osteoarthropathie. In: Wollina, U., Hein, G., Knopf, B., (Hrsg.). *Psoriasis und Gelenkerkrankungen*. Gustav Fischer Verlag Jena Stuttgart, S. 135-162, 1996.
- [76] Lorget, F.; Mentaverri, R.; Meddah, B.; Cayrolle, G.; Wattel, A.; Morel, A.; Schecroun, N.; Maamer, M.; de Vernejoul, M.C.; Kamel, S.; Brazier, M.: Evaluation of in vitro bone resorption: high-performance liquid chromatography measurement of the pyridinolines released in osteoclast cultures. *Anal Biochem* 284 (2): S. 375-381, 2000.
- [77] Mathies, H.; Hein, G.: Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR). In: Wollina, U., Hein, G., Knopf, B., (Hrsg.). *Psoriasis und Gelenkerkrankungen*. Gustav Fischer Verlag Jena, Stuttgart, S. 177-186, 1996.
- [78] McLaren, A.M.; Isdale, A.H.; Whiting, P.H.; Bird, H.A.; Robins, S.P.: Physiological variations in the urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen. *Br J Rheumatol* 32 (4): S. 307-312, 1993.
- [79] Meddah, B.; Brazier, M.; Kamel, S.; Maamer, M.; Samson, L.; Desmet, G.; Sebert, J.L.: [Urinary excretion of free and total deoxypyridinoline during secondary hyperparathyroidism in the elderly. Comparison of chromatographic (HPLC) and immunoenzymatic (Pyrilinks-D) methods]. *Ann Biol Clin* 54 (10-11): S. 353-358, 1996.
- [80] Meffert, H.: Photo(chemo)therapie. In: Wollina, U., Hein, G., Knopf, B., (Hrsg.). *Psoriasis und Gelenkerkrankungen*. Gustav-Fischer-Verlag Jena, Stuttgart, S. 226-234, 1996.

- [81] Miehle, W.: Laborchemische Diagnostik der Osteoarthropathia psoriatica. In: Wollina, U., Hein, G., Knopf, B., (Hrsg.). Psoriasis und Gelenkerkrankungen. Gustav Fischer Verlag Jena Stuttgart, S. 124-134, 1996.
- [82] Mohr, W.: Die Pathogenese der Gelenkdestruktion bei der chronischen Polyarthrit. Radiologe 36 (8): S. 593-599, 1996.
- [83] Mora, S.; Prinster, C.; Proverbio, M.C.; Bellini, A.; de Poli, S.C.; Weber, G.; Abbiati, G.; Chiumello, G.: Urinary markers of bone turnover in healthy children and adolescents: age-related changes and effect of puberty. Calcif Tissue Int 63 (5): S. 369-374, 1998.
- [84] Müller, A.; Stein, G.; Lehmann, G.; Hein, G.: Investigations of bone turnover in renal osteopathy. Eur J Med Res 4 (2): S. 78-84, 1999.
- [85] Muller-Ladner, U.; Gay, R.E.; Gay, S.: Cellular pathways of joint destruction. Curr Opin Rheumatol 9 (3): S. 213-220, 1997.
- [86] Nolla, J.M.; Fiter, J.; Rozadilla, A.; Gomez-Vaquero, C.; Mateo, L.; Rodriguez-Moreno, J.; Roig-Escofet, D.: Bone mineral density in patients with peripheral psoriatic arthritis. Rev Rhum Engl Ed 66 (10): S. 457-461, 1999.
- [87] Ohishi, T.; Takahashi, M.; Kawana, K.; Aoshima, H.; Hoshino, H.; Horiuchi, K.; Kushida, K.; Inoue, T.: Age-related changes of urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in Japanese subjects. Clin Invest Med 16 (5): S. 319-325, 1993.
- [88] Otto, W.: Klinik der rheumatischen Erkrankungen. In: Otto, W., Seidel, K., Wessel, G., (Hrsg.). Rheumatische Erkrankungen. Verlag für Volk und Gesundheit Berlin, S. 99, 1981.
- [89] Pang, C.P.; Ho, K.C.; Jones, M.G.; Cheung, C.K.: Analysis of total hydroxyproline in urine by high-performance liquid chromatography and pre-column derivatization. J Chromatogr 386: S. 309-314, 1987.

- [90] Panteghini, M.; Pagani, F.: Biological variation in urinary excretion of pyridinium crosslinks: recommendations for the optimum specimen. *Ann Clin Biochem* 33 (Pt 1): S. 36-42, 1996.
- [91] Pillinger, M.H.; Abramson, S.B.: The neutrophil in rheumatoid arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 21 (3): S. 691-714, 1995.
- [92] Prestwood, K.M.; Pannullo, A.M.; Kenny, A.M.; Pilbeam, C.C.; Raisz, L.G.: The effect of a short course of calcium and vitamin D on bone turnover in older women. *Osteoporos Int* 6 (4): S. 314-319, 1996.
- [93] Prozorovskaia, N.N.; Kozlov, E.A.; Prokhorova, T.A.; Gorokhova, T.A.; Prozorovskii, V.N.; Del'vig, A.A.: [Physiological changes in pyridinoline excretion in urine depending on age and sex]. *Vopr Med Khim* 37 (1): S. 72-74, 1991.
- [94] Pyridinium crosslinks as markers of bone resorption [editorial]. *Lancet* 340 (8814): S. 278-279, 1992.
- [95] Randall, A.G.; Kent, G.N.; Garcia-Webb, P.; Bhagat, C.I.; Pearce, D.J.; Gutteridge, D.H.; Prince, R.L.; Stewart, G.; Stuckey, B.; Will, R.K.; Retallack, R.W.; Price, R.I.; Ward, L.: Comparison of biochemical markers of bone turnover in Paget disease treated with pamidronate and a proposed model for the relationships between measurements of the different forms of pyridinoline cross-links. *J Bone Miner Res* 11 (8): S. 1176-1184, 1996.
- [96] Rauch, F.; Rauch, R.; Woitge, H.W.; Seibel, M.J.; Schonau, E.: Urinary immunoreactive deoxypyridinoline in children and adolescents: variations with age, sex and growth velocity. *Scand J Clin Lab Invest* 56 (8): S. 715-719, 1996.
- [97] Reid, D.M.; Kennedy, N.S.; Nicoll, J.; Smith, M.A.; Tothill, P.; Nuki, G.: Total and peripheral bone mass in patients with psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 5 (3): S. 372-378, 1986.
- [98] Rosen, H.N.; Dresner-Pollak, R.; Moses, A.C.; Rosenblatt, M.; Zeind, A.J.; Clemens, J.D.; Greenspan, S.L.: Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tissue Int* 54 (1): S. 26-29, 1994.

- [99] Roux, S.; Orcel, P.: Bone loss. Factors that regulate osteoclast differentiation: an update. *Arthritis Res* 2 (6): S. 451-456, 2000.
- [100] Rubinacci, A.; Melzi, R.; Zampino, M.; Soldarini, A.; Villa, I.: Total and free deoxypyridinoline after acute osteoclast activity inhibition. *Clin Chem* 45 (9): S. 1510-1516, 1999.
- [101] Sairanen, S.; Tahtela, R.; Laitinen, K.; Karonen, S.L.; Valimaki, M.J.: Nocturnal rise in markers of bone resorption is not abolished by bedtime calcium or calcitonin. *Calcif Tissue Int* 55 (5): S. 349-352, 1994.
- [102] Schilling, F.; Komenda, K.; Schacherl, M.: Arthritis psoriatica - szintigrafische Vergleichsstudie zu Röntgenbild und Klinik. In: Schilling, F., (Hrsg.). *Arthritis und Spondylitis psoriatica*. Steinkopff Verlag Darmstadt, S. 175-184, 1986.
- [103] Schlemmer, A.; Hassager, C.; Jensen, S.B.; Christiansen, C.: Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 74 (3): S. 476-480, 1992.
- [104] Schlemmer, A.; Hassager, C.; Risteli, J.; Risteli, L.; Jensen, S.B.; Christiansen, C.: Possible variation in bone resorption during the normal menstrual cycle. *Acta Endocrinol (Copenh)* 129 (5): S. 388-392, 1993.
- [105] Schlemmer, A.; Hassager, C.; Delmas, P.D.; Christiansen, C.: Urinary excretion of pyridinium cross-links in healthy women; the long-term effects of menopause and oestrogen/progesterone therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 40 (6): S. 777-782, 1994.
- [106] Schlemmer, A.; Hassager, C.; Alexandersen, P.; Fledelius, C.; Pedersen, B.J.; Kristensen, I.O.; Christiansen, C.: Circadian variation in bone resorption is not related to serum cortisol. *Bone* 21 (1): S. 83-88, 1997.
- [107] Schlosser, K.; Scigalla, P.: Biochemical markers as surrogates in clinical trials in patients with metastatic bone disease and osteoporosis. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 227: S. 21-28, 1997.

- [108] Scopacasa, F.; Horowitz, M.; Wishart, J.M.; Morris, H.A.; Chatterton, B.E.; Need, A.G.: The relation between bone density, free androgen index, and estradiol in men 60 to 70 years old. *Bone* 27 (1): S. 145-149, 2000.
- [109] Seibel, M.J.; Duncan, A.; Robins, S.P.: Urinary hydroxy-pyridinium crosslinks provide indices of cartilage and bone involvement in arthritic diseases. *J Rheumatol* 16 (7): S. 964-970, 1989.
- [110] Seibel, M.J.: Hydroxy-pyridinium "Crosslinks" im Urin als spezifische Marker der Knochenresorption bei metabolischen Knochenerkrankungen. *Klin. Lab.* 38: S. 642-643, 1992.
- [111] Seibel, M.J.; Robins, S.P.; Bilezikian, J.P.: Urinary Pyridinium Crosslinks of Collagen; Specific Markers of Bone Resorption in Metabolic Bone Disease. *Trends Endocrinol Metab* 7: S. 263-270, 1992.
- [112] Seibel, M.J.; Cosman, F.; Shen, V.; Gordon, S.; Dempster, D.W.; Ratcliffe, A.; Lindsay, R.: Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption and estrogen efficacy in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 8 (7): S. 881-889, 1993.
- [113] Seibel, M.J.; Woitge, H.; Scheidt-Nave, C.; Leidig-Bruckner, G.; Duncan, A.; Nicol, P.; Ziegler, R.; Robins, S.P.: Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in population-based screening for overt vertebral osteoporosis: results of a pilot study. *J Bone Miner Res* 9 (9): S. 1433-1440, 1994.
- [114] Shapses, S.A.; Robins, S.P.; Schwartz, E.I.; Chowdhury, H.: Short-term changes in calcium but not protein intake alter the rate of bone resorption in healthy subjects as assessed by urinary pyridinium cross-link excretion. *J Nutr* 125 (11): S. 2814-2821, 1995.
- [115] Sinigaglia, L.; Varenna, M.; Binelli, L.; Beltrametti, P.; Zucchi, F.; Arrigoni, M.; Frignani, S.; Abbiati, G.: Serum levels of pyridinium crosslinks in postmenopausal women and in Paget's disease of bone. *Calcif Tissue Int* 61 (4): S. 279-284, 1997.



- [116] Spector, T.D.; James, I.T.; Hall, G.M.; Thompson, P.W.; Perrett, D.; Hart, D.J.: Increased levels of urinary collagen crosslinks in females with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 12 (2): S. 240-244, 1993.
- [117] Stadelmann, M.-L.S., F.: Humoral-systemische Befunde bei den verschiedenen Formen und Typen der Arthritis und Spondylitis psoriatica. In: Schilling, F., (Hrsg.). *Arthritis und Spondylitis psoriatica*. Steinkopff Verlag Darmstadt, S. 145-150, 1986.
- [118] Stiehl, P.; Wetzig, M.: Untersuchungsbefunde an der Synovialmembran und an Synovialflüssigkeiten bei der Arthritis psoriatica. *Akt Rheumatol* 25: S. 132-137, 2000.
- [119] Takahashi, M.; Kushida, K.; Hoshino, H.; Suzuki, M.; Sano, M.; Miyamoto, S.; Inoue, T.: Concentrations of pyridinoline and deoxypyridinoline in joint tissues from patients with osteoarthritis or rheumatoid arthritis [see comments]. *Ann Rheum Dis* 55 (5): S. 324-327, 1996.
- [120] Takahashi, M.; Kushida, K.; Hoshino, H.; Ohishi, T.; Inoue, T.: Biochemical markers of bone turnover do not decline after menopause in healthy women. *Br J Obstet Gynaecol* 106 (5): S. 427-431, 1999.
- [121] Takayanagi, H.; Juji, T.; Miyazaki, T.; Iizuka, H.; Takahashi, T.; Isshiki, M.; Okada, M.; Tanaka, Y.; Koshihara, Y.; Oda, H.; Kurokawa, T.; Nakamura, K.; Tanaka, S.: Suppression of arthritic bone destruction by adenovirus-mediated csk gene transfer to synoviocytes and osteoclasts. *J Clin Invest* 104 (2): S. 137-146, 1999.
- [122] Thomas, L.: Hydroxyprolin. In: Thomas, L., (Hrsg.). *Labor und Diagnose*. 4.Aufl. Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, S. 263-268, 1992.
- [123] Thomas, L.: C-reaktives Protein (CRP). In: Thomas, L., (Hrsg.). *Labor und Diagnose*. Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, S. 780-790, 1992.
- [124] Thomas, L.: Immunchemische Labortechniken. In: Thomas, L., (Hrsg.). *Labor und Diagnose*. Die Medizinische Verlagsgesellschaft Marburg, S. 1819, 1992.

- [125] Thompson, P.W.; Spector, T.D.; James, I.T.; Henderson, E.; Hart, D.J.: Urinary collagen crosslinks reflect the radiographic severity of knee osteoarthritis. *Br J Rheumatol* 31 (11): S. 759-761, 1992.
- [126] Tobias, J.H.; Laversuch, C.V.; Wilson, N.; Robins, S.P.: Neridronate preferentially suppresses the urinary excretion of peptide- bound deoxypyridinoline in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 59 (5): S. 407-409, 1996.
- [127] Uebelhart, D.; Schlemmer, A.; Johansen, J.S.; Gineyts, E.; Christiansen, C.; Delmas, P.D.: Effect of menopause and hormone replacement therapy on the urinary excretion of pyridinium cross-links. *J Clin Endocrinol Metab* 72 (2): S. 367-373, 1991.
- [128] Vinholes, J.; Guo, C.Y.; Purohit, O.P.; Eastell, R.; Coleman, R.E.: Evaluation of new bone resorption markers in a randomized comparison of pamidronate or clodronate for hypercalcemia of malignancy. *J Clin Oncol* 15 (1): S. 131-138, 1997.
- [129] Walne, A.J.; Jenkins, P.J.; James, I.T.; Plowman, P.N.: Pyridinium crosslinks in the monitoring of patients with bone metastases from carcinoma of the breast. *Clin Oncol* 9 (1): S. 30-34, 1997.
- [130] Westergren, A.: Die Senkungsreaktion. *Ergebnisse der Inneren Medizin und Kinderheilkunde* (26): S. 577, 1924.
- [131] Wishart, J.M.; Need, A.G.; Horowitz, M.; Morris, H.A.; Nordin, B.E.: Effect of age on bone density and bone turnover in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 42 (2): S. 141-146, 1995.
- [132] Yoshihara, K.; Nemoto, S.; Nagata, M.: Urinary excretion level of hydroxylsypyrindinoline as an index of bone resorption. *Biol Pharm Bull* 17 (6): S. 840-842, 1994.
- [133] Zittermann, A.; Schwarz, I.; Scheld, K.; Sudhop, T.; Berthold, H.K.; von Bergmann, K.; van der Ven, H.; Stehle, P.: Physiologic fluctuations of serum estradiol levels influence biochemical markers of bone resorption in young women. *J Clin Endocrinol Metab* 85 (1): S. 95-101, 2000.

- [134] Zolezzi, C.; Lenzi, L.; Salizzoni, M.P.; Pizzoferrato, A.: [Reference values of assayable pyridinolines as markers of bone turn- over]. *Minerva Med* 86 (1-2): S. 5-9, 1995.

## Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in der Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: Herr Prof. Dr. med. G. Hein, Leiter des Funktionsbereiches Rheumatologie und Osteologie der Klinik für Innere Medizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena, die Mitarbeiter des Rheumatologischen Labors Herr Dr. rer.nat. A. Müller und Frau Dr. rer. nat. S. Franke sowie Frau Dr. med. U. Barta von der Universitätsklinik für Dermatologie und dermatologische Allergologie Jena,

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 25. 11. 2001

Friedemann Schmidt

# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Name	Friedemann Schmidt
geboren am	23. 01. 1968
in	Berlin
Familienstand	in Lebensgemeinschaft, drei Kinder

## Schulbildung

09/74 - 08/76	Polytechnische Oberschule Berlin-Prenzlauer Berg
09/76 - 08/80	Musikspezialschule Berlin-Friedrichshain
09/80 - 08/84	Polytechnische Oberschule Naumburg
09/84 - 08/86	Erweiterte Oberschule Naumburg
1986	Abitur

## Studium und berufliche Tätigkeit

09/86 - 10/86	Vorpraktikum im Kreiskrankenhaus Naumburg
09/89 - 09/95	Humanmedizinisches Studium an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
27. 09. 1995	Hochschulabschluß Medizin an der FSU Jena
05/96 - 10/97	Arzt im Praktikum in der Inneren Abteilung des Landesfachkrankenhauses für Psychiatrie und Neurologie Stadtroda
11/97 - 10/98	Arzt in Weiterbildung im Landesfachkrankenhauses für Psychiatrie und Neurologie Stadtroda
12/98 – 08/99	Arzt in Weiterbildung in der Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie des Klinikum Erfurt
seit 01.10.1999	Arzt in Weiterbildung in der Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie des Kreiskrankenhauses Naumburg

Jena, den 25. November 2001

## Danksagung

Hiermit danke ich allen, die Anteil an der Fertigstellung dieser Arbeit haben .

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. G. Hein, Leiter des Funktionsbereiches Rheumatologie und Osteologie der Klinik für Innere Medizin der Friedrich-Schiller-Universität Jena für die Bereitstellung des Themas, die Diskussion über die Bewertung der Ergebnisse sowie die geduldige Motivierung und Beratung bei der Erstellung des Manuskripts.

Weiterhin danke ich den Mitarbeitern des Rheumatologischen Labors, vor allem Herrn Dr. rer.nat. A. Müller für die Einführung in die Methodik der HPLC, die Unterstützung bei der Probenvorbereitung und die Bestimmung der Pyridinium-Crosslinks und von Hydroxyprolin sowie seine Hinweise bei der Erstellung des Manuskripts. Desweiteren Frau Dr. rer. nat. S. Franke für die Bestimmung der N-terminalen Telopeptide und Herrn Markus Kloth, Doktorand der eigenen Arbeitsgruppe, für die Überlassung der Daten der RA-Patienten.

Weiterhin gilt mein Dank Frau Oberärztin Dr. med. U. Barta von der Universitätsklinik für Dermatologie und dermatologische Allergologie Jena für die Bereitstellung der Daten und Proben der Psoriasis-Patienten.

Insbesondere danke ich meiner Lebensgefährtin Bettina Kriese für ihre Ermutigung und ausdauernde Unterstützung und meinen Kindern Wenzel, Anton und Lovis für ihre Geduld.

# Thesen zur Dissertation

Kollagen-Abbaumarker bei Osteoarthropathia psoriatica -  
Abhängigkeit von der Arthritisaktivität, dem Geschlecht und dem Alter

vorgelegt von Friedemann Schmidt

1. Die Psoriasis kann als Allgemeinerkrankung angesehen werden, die sich vorwiegend an der Haut, den Gelenken und symptomatisch weitgehend „stumm“ am Knochen manifestiert.
2. Im Unterschied zur Rheumatoiden Arthritis (RA) hat die Gelenkdestruktion bei der Arthritis psoriatica (Ap) ihren Ursprung - neben der Synovialitis - vor allem in einem gelenknahen Knochenumbauprozeß, der auf das Gelenk übergreift.
3. Die Prognose wird durch das Ausmaß der Gelenkzerstörung bestimmt – somit ist es Ziel der Therapie, sowohl die Synovialitis als auch den verantwortlichen psoriatischen Knochenprozeß zu bremsen.
4. Zur Diagnostik und zum Therapie-Monitoring bei der Ap wird nach nichtinvasiven Parametern gesucht, mit denen die Intensität des Krankheitsprozesses am Knorpel und am Knochen erfaßt werden kann.
5. Entzündungsparameter geben Aufschluß über die Intensität der Synovialitis, nicht jedoch über die Aktivität des Knochenprozesses. Sie reflektieren auch nur ungenügend die Intensität der Knorpeldestruktion. Kollagenabbaumarker können dagegen Auskunft über die letztgenannten Aspekte – Knochenabbau und Knorpeldestruktion – geben.
6. Die Kollagen-Crosslinks Pyridinolin (Pyd) (Knochen und Knorpel) und Desoxypyridinolin (Dpyd) (Knochen) zeigen bei der Ap im Vergleich zum Gesunden erhöhte Spiegel im Urin.
7. Die CL-Spiegel im Urin sind bei der aktiven Ap mit denen bei RA-Patienten vergleichbar. Bei der Ap wird jedoch ein relativ stärkerer Anstieg von Dpyd im Vergleich zu Pyd beobachtet. Das kann im Sinne der stärkeren Knochenbeteiligung bei der Ap gegenüber der RA gedeutet werden und damit für eine Psoriasis-immanente Osteopathie sprechen.

8. Die CL-Spiegel im Urin korrelieren mit den Markern der Arthritisaktivität CrP und BSG und zeigen sich bei der inaktiven Ap als auch bei der Psoriasis ohne Arthritis kaum erhöht. Dies spricht für eine enge Assoziation von Osteopathie und Arthritis.
9. Die individuelle diagnostische Aussagekraft der CL-Spiegel ist jedoch dadurch eingeschränkt, daß verschiedene Faktoren (insbesondere geschlechtsabhängige und tageszeitliche) sowie das Alter wesentlichen Einfluß auf die Höhe der CL-Ausscheidung besitzen.
10. So zeigen Männer eine niedrigere CL-Ausscheidung als Frauen und bei Frauen lassen sich deutlich weniger korrelative Zusammenhänge als bei den Männern feststellen. Dies kann als Ausdruck des Einflusses des Menopausestatus oder der Phase des Menstruationszyklus angesehen werden, was mit dem Einfluß der Östrogene auf den Knochenstoffwechsel erklärt werden kann.
11. Weitere Untersuchungen sollten zeigen, inwieweit diese Faktoren in die Feststellung von Referenzbereichen einbezogen werden müssen. Schwankungen der CL-Spiegel im Rahmen des Menstruationszyklus müssen in der Verlaufsdiagnostik von rheumatischen Erkrankungen in Erwägung gezogen werden.
12. Die im Serum gemessenen CL-Konzentrationen korrelieren wesentlich geringer mit Entzündungsmarkern bzw. untereinander als die CL-Spiegel im Urin. Sie weisen damit eine deutlich geringere diagnostische Aussagekraft als die CL-Urin-Spiegel auf.
13. Hydroxyprolin als unspezifischer Kollagenabbaumarker und die N-terminalen Telopeptide (NTx) als Knochen-spezifische Kollagenabbaumarker zeigen bei der aktiven Ap höhere Werte als bei der inaktiven Ap. Dabei fällt die relative Differenz bei beiden geringer aus als bei Dpyd, das ebenso wie NTx spezifisch den Knochenabbau darstellt.
14. Die Konzentration CL-verknüpfter Peptide wie dem NTx wird von den wahrscheinlich individuell unterschiedlichen proteolytischen Aktivitäten beeinflusst, die sich möglicherweise in Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Dauer der Erkrankung ändern. Deshalb könnte Dpyd als Summe aus freiem und Peptid-gebundenem Anteil Knochenabbauvorgänge realistischer widerspiegeln als NTx.
15. In zukünftigen Studien sollten parallel CL-Messungen und knochenszintigrafische bzw. bildgebende Verlaufsuntersuchungen durchgeführt werden, um die prognostische Wertigkeit der Pyridinium-CL Pyridinolin und Desoxypyridinolin zu bestimmen.